

C-VITAMINSTUDIER HOS SYGE OG SUNDE

AF
ERIK TRIER



and Medical Library

EJNAR MUNKSGAARD - KØBENHAVN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154018_0008

Bekendtgørelse.

I Henhold til kgl. Anordning af 13. Oktober 1927 er der fastsat følgende Bestemmelser til Ordens Opretholdelse ved det offentlige Forsvar af Doktorafhandlinger:

1. Forsvarshandlingen ledes af Fakultetets Dekanus eller af en anden dertil af Fakultetet udnævnt Professor. Ordstyreren giver Ordet og paaser, at Handlingen foregaar paa en værdig Maade; han kan paalægge en Opponent at høre op og i fornødent Fald afbryde Handlingen. Ordstyreren deltager ikke selv i Forhandlingen. Foruden de officielle Opponenten er de Medlemmer af Fakultetet, under hvis Fagomraade Afhandlingens Emne hører, og som ikke har lovligt Forfald, forpligtede til at overvære Forsvarshandlingen.
2. Som Opponenten ex auditorio har i Almindelighed kun akademiske Borgere samt polytekniske Kandidater Ret til at optræde. Dog kan Fakultetet ogsaa tillade andre, som fremsætter Ønske derom, at opponere. Opponenten ex auditorio maa melde sig hos Ordstyreren inden Begyndelsen af Handlingen; dog kan Ordstyreren ogsaa lade senere anmeldte Opponenten faa Ordet, men uden at betage dem, der tidligere har meldt sig, Forretten.
3. Der tilstaaes i Almindelighed hver af de officielle Opponenten $1\frac{1}{2}$ Time og hver Opponent ex auditorio $\frac{3}{4}$ Time, derunder indbefattet den Tid, Doktoranden behøver til at give Svar; dog kan Ordstyreren, for saa vidt som Antallet af de anmeldte Opponenten tillader det, tilstaa en længere Tid. Handlingen maa ikke vare over 6 Timer.
4. Foranførte Bestemmelser skal indtil videre trykte medfølge enhver Disputats.

Dette bekendtgøres herved til Efterretning for alle Vedkommende.

Konsistorium, den 21. November 1927.

C-VITAMINSTUDIER
HOS SYGE OG SUNDE

C-VITAMINSTUDIER

HOS SYGE OG SUNDE

AF

ERIK TRIER



EJNAR MUNKSGAARD

KØBENHAVN

1940

*Denne Afhandling er af det lægevidenskabelige
Fakultet antaget til offentlig at forsvares for den
medicinske Doktorgrad.*

EGGERT MØLLER

København, den 15. Juli 1940.

h. a. dec.

*Copyright by
Ejnar Munksgaard
1940*

Printed in Denmark
PEDERSEN & LEFVRE KØBENHAVN V

INDHOLD

Indledning	9
<i>Kapitel 1:</i> Undersøgelse over ascorbinsyre i serum med metylen- blaatreaktionen	11
<i>Kapitel 2:</i> Undersøgelser over ascorbinsyre i urin med metylen- blaatreaktionen	38
<i>Kapitel 3:</i> Serumascorbinsyrens aarstids- og aldersvariation	54
<i>Kapitel 4:</i> Analysemetoder til bestemmelse af ascorbinsyre i blod	64
<i>Kapitel 5:</i> Ascorbinsyrebelastninger med urin- og blodanalyser ..	73
<i>Kapitel 6:</i> Bestemmelser af ascorbinsyrens nyretærskel	81
<i>Kapitel 7:</i> Nyretærsklens bevægelighed	88
<i>Kapitel 8:</i> C-hypovitaminosen	98
a) Laboratoriediagnosen	98
b) Den kliniske diagnose	103
<i>Kapitel 9:</i> C-vitaminbehovets størrelse	107
<i>Kapitel 10:</i> C-vitaminbehovet ved forskellige sygdomme og ascor- binsyrens anvendelse i terapien	114
Résumé	119
Literaturfortegnelse	123

FORORD

Dette arbejde udgaar fra Københavns universitets hygiejniske institut som et led i de vitaminundersøgelser, der gennem en aarrække er fremkommet fra dette institut. Institutets chef, professor dr. med. L. S. Fridericia, bringer jeg min bedste tak for udmærkede arbejdsvilkaar og for stadig interesse.

Institutets videnskabelige assistent, dr. med. Helge Lund, takker jeg for tilskyndelsen til at tage disse undersøgelser op og for talrige vink og raad under arbejdets udførelse.

En væsentlig del af arbejdet er udført under ansættelser paa afdeling C og afdeling A paa amtssygehuset i Gentofte. Disse afdelingers chefer, overlæge dr. med. M. Siggaard Andersen og professor dr. med. P. Morville, bringer jeg hermed min tak for gode arbejdsvilkaar og for den interesse, der har været mig en betydelig hjælp.

Enkelte undersøgelser er udført under en ansættelse paa Blegdamshospitalet, hvis daværende chef, professor dr. med. V. Bie, jeg mindes med taknemmelighed.

En særlig tak skylder jeg flere kolleger for hjælpsomhed og personalet paa hygiejnisk institut for godt kammeratskab i det daglige arbejde.

For økonomisk støtte til noget af arbejdet takker jeg »P. Carl Petersens Fond«.

INDLEDNING

Nærværende arbejde er paabegyndt i 1936 og afsluttet i sommeren 1939. Formaalet har været at belyse C-vitaminets stofskifte ved hjælp af undersøgelser i blod og urin med kemiske metoder. I samme tidsrum er der om disse emner fremkommet en overvældende litteratur fra de fleste lande. Den største del af den foreliggende experimentel-fysiologisk prægede del af litteraturen er omtalt og vurderet her, mens de talrige meddelelser om C-vitamin- eller ascorbinsyreterapi, der nylig er refereret udførligt i et større svensk arbejde af Dagulf, kun er omtalt i største kortfattethed.

Det vilde være ganske kunstigt, hvis fremstillingen i dette arbejde blev givet uden hensyn til de seneste aars publikationers kronologi. De forskellige afsnits rækkefølge er derfor saaledes:

De første kapitler omhandler de her anvendte analysemetoders teknik og ydeevne, i de næste kapitler beskrives egne og andres resultater under forskellige forsøgsbetingelser, og i de sidste kapitler er det forsøgt at give en oversigt over og vurdering af de slutninger, der kan drages paa grundlag af de foreliggende studier over C-vitaminstofskiftet.

Nomenklatur:

C-vitamin: Det naturligt forekommende antiscorbutiske vitamin.

Ascorbinsyre: Syntetisk C-vitamin eller l-ascorbinsyre.

Den internationale enhed: 0,1 ml saft af middelhavscitronen = 0,05 mg ascorbinsyre.

Ved omtale af fødens indhold af C-vitamin er dette omtalt som C-vitamin, mængdeforholdene er dog omregnet til mg ascorbinsyre. De i blod og urin med kemiske titreringsmetoder fundne reduktioner, der tages som udtryk for tilstedeværelsen af naturligt C-vitamin, er ligesom titreringsresultater ved tilsat syntetisk ascorbinsyre omtalt som ascorbinsyre.

Kapitel I

UNDERSØGELSE OVER ASCORBINSYRE I SERUM MED METYLENBLAATREAKTIONEN

De i nærværende arbejde udførte bestemmelser af ascorbinsyre i blodserum er foretaget med den af *Lund & Lieck* i 1936 beskrevne metode.

Til trods for de mere eller mindre berettigede indvendinger, der er rejst mod denne metode, hvorom senere, har den i det store og hele været let og bekvem i brugen. Da der desuden foreligger forskellige meddelelser om sammenlignende undersøgelser af ascorbinsyrekoncentrationen foretaget med forskellige kemiske metoder, hver med sine fortrin, synes det nu muligt at vurdere de sidste 6 aars publicerede meddelelser og dermed værdien og betydningen af de oplysninger om C-vitaminstofskiftet, som er fremkommet.

Metoden er — som anført af *Lund* (1939) — ikke undergaaet ændringer af større betydning. Af mindre fremskridt maa følgende nævnes: Den oprindelige køleanordning med en Petri-skaal, der hyppigt forsynes med friskt kølevand, er erstattet med en køleanordning, der stadig gennemstrømmes af koldt vand, hvorved en yderst konstant temperatur sikres. Dette er kontrolleret talrige gange, og det har vist sig, at kølevandets temperatur svinger meget lidt, kun mellem 9 og 11° aaret igennem for Københavns vandværksvands vedkommende. Herved er temperaturens (eller virkningen af den af temperaturen afhængige iltmængde i væsken) indflydelse paa ascorbinsyrens reduktion nedbragt til en betydningsløs størrelse for titreringens resultat.

Titreringens nøjagtighed er afhængig af den pr. gang tilsatte mængde metylenblaat. I de først udførte undersøgelser benyttedes en burette, der gav en draabestørrelse mellem 0,02 og 0,03 ml.

Ved at forsyne buretten med en fint udtrukket spids — som først benyttet af *Elmby & With* ved den af dem angivne mikrometode — kan den afgive draaber paa 0,01 ml. Efter nogen tids øvelse i at iagttage de svage farver kan man opnaa stor nøjagtighed i aflæsningen, idet dobbeltbestemmelser ofte viser ganske det samme metylenblaatforbrug og højst en draabedifferens paa 1. Dette svarer til en forskel i ascorbinsyrekoncentrationen paa 0,03 mg pr. 100 ml. Hermed har metoden en meget betydelig nøjagtighed, som er fuldt tilstrækkelig til dens anvendelse i kliniken.

I en tidligere meddelelse (1938) anføres det, at dobbeltbestemmelsen har vist god overensstemmelse, idet forskellen i analyseresultatet har været under 0,10 mg pr. 100 ml. Dette svarer til den nøjagtighed, som kan opnaas ved en draabestørrelse paa 0,03 ml; nøjagtigheden kan altsaa forøges 3 gange ved at bruge den fint udtrukne burettespids. Af betydning er desuden koncentrationen af metylenblaat i væsken. Det er fundet mest hensigtsmæssigt at benytte en opløsning af en saadan koncentration, at 0,7 ml reduceres af 1 ml ascorbinsyrepopløsning indeholdende 0,01 mg.

Metodens apparatur.

Burette: Opretstaaende forsynet med sprøjte med skruegang, der tillader draabevis tilsætning. Volumen: 1 ml inddelt i $\frac{1}{100}$ ml, forsynet med spids, der giver draabestørrelsen $\frac{1}{100}$ ml (oprindeligt angivet af *Rehberg*).

Belysningsapparat med kolelegeme, der gennemstrømmes med koldt vand.

Lyskilde: 100 watt helmat Nitra-Osramlampe.

Standardopløsninger fremstillet med glasdestilleret vand:

a) 40 % triklorreddikesyre (holdbar i 2—4 mdr.).

b) alkalisk stødpudeopløsning:

Na_2HPO_4 , $2\text{H}_2\text{O}$	g	6
KCl	g	10
aq. redest.	ml	100
(holdbar indtil 4 uger).		

c) metylenblaatopløsning (Merek's klorzinkfri metylenblaat). Stamopløsningen: 15 mg opløst i 100 ml aq. redest. tilsat

KH_2PO_4	g	9
NaCl	g	2, herefter filtrering.

Før titreringen fortyndes med aq. redest. indeholdende de nævnte salte, indtil der ved indstilling overfor 1 ml frisk ascorbinsyreopløsning i vand paa 1 mg pr. 100 ml reduceres 0,7 ml metylenblaatopløsning. Denne er holdbar i 1—12 mdr., den maa kasseres, hvis titeren ændres væsentligt, hvis der kommer udfældning af metylenblaatkorn eller vækst.

Metodens udførelse.

Ved venepunktur tages 4—10 ml blod i centrifugeglas uden koagulationshæmmende stof. Kanylen skal være tør uden sprit eller vand; benyttes en vaad kanyle, skal de første 1—2 ml gaa til spilde. Dette er for at undgaa hæmolyse, der bevirker oxydation af den tilstedeværende ascorbinsyre. Prøven henstilles til fuldstændig koagulation, og helst til der er begyndende eller fuldstændig koagelretraktion. Koaglet løsnes eventuelt. Herefter kraftig centrifugering med 3—4000 omdrejninger pr. minut i 6—8 minutter. Serum afpipetteres. Det deproteiniseres ved tilsætning af 40 % trikloreddikesyre i forholdet 5:1. Efter omhyggelig omrøring med glasstav centrifugeres igen i 3—6 minutter, og det nu vandklare, deproteiniserede serum hældes fra bundfaldet.

0,6 ml deproteiniseret serum tages i titreringsglasset, et fladbundet cylindrisk præparatglas med en indvendig diameter paa ca. 1,2 cm; og der tilsættes 0,4 ml af stødpudeopløsningen. Paa denne blanding udføres titreringen ved draabevis tilsætning af metylenblaat efterfulgt af belysning i apparatet i nøjagtig 30 sek. Herefter tages titreringsglasset op, og farven — eller affarvningen — bedømmes i paa-faldende dagslys med hvid baggrund (kontrolglas). Der tilsættes metylenblaat og belyses, indtil affarvningen udebliver, saaledes at der resterer en svag, men tydelig blaafarvning. Aflæsningen skal foretages hurtigt, da farven gendanner sig, vurderingen maa højst tage 5 sekunder. Ved særlig store ascorbinsyrekoncentrationer tages den halve mængde i glasset.

Af det fundne metylenblaatforbrug beregnes serumkoncentrationen: Serum er fortyndet til den halve mængde ved deproteiniseringen og stødpudesætningen. Beregningen er da simpel efter følgende formel:

$$\frac{\text{Forbrugt mængde metylenblaat i ml} \times 2 \text{ (serumfortynding)}}{\text{metylenblaatfaktoren i ml}}$$

Eksempel: 1 ml 0,01 % ascorbinsyreopløsning reducerer 0,70 ml metylenblaat, faktoren er 0,70. Forbrugt til titreringen 0,14 ml metylenblaat; ascorbinsyrekoncentrationen bliver da $\frac{0,14 \times 2}{0,7} = 0,40$ mg pr. 100 ml serum.

Metodens paalidelighed.

Som vist af *Lund & Lieck* er metoden specifik, idet de i serum forekommende andre reducerende stoffer, der kunde tænkes at reducere metylenblaat, ikke giver reduktion, og heller ikke tilsat til serum synes at hindre reduktionen af tilsat ascorbinsyre. Der findes ikke i den tilgængelige litteratur meddelelser, der modsiger disse fund.

Ved tidligere forsøg fandtes det (*Lund & Lieck, Trier, Lund o. a.*), at metoden ligeledes var kvantitativ, idet tilsatte kendte ascorbinsyremængder i talrige sera blev genfundet ved titreringen. Dette er ikke blevet bekræftet af senere undersøgere (*Bræstrup, Broch, Dagulf, Difs, Backman, Lund & medarbejdere*). Det er af de sidstnævnte paavist, at en betydelig del, ofte over 75 %, af ascorbinsyren genfindes, naar den tilsættes inden deproteiniseringen, mens der ved tilsætning efter deproteiniseringen kun genfindes $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ heraf.

Med oget belysning (300 watt) genfinder *Herlitz* tilsatte mængder kvantitativt i 9 blodprover. Han standardiserer sin metylenblaatopløsning overfor ascorbinsyre i en opløsning, der indeholder trikloreddikesyre og stødpudefopløsning, mens *Lund & medarbejdere* benytter vandig ascorbinsyreopløsning. Ved *Herlitz'* fremgangsmaade angives det af *Bachman*, at koefficienten forøges 15—20 %, og dette bevirker altsaa, at genfindelsesprocenten forøges tilsvarende.

Med en noget ændret metodik genfinder *Hausberger & Neuenchwander-Lemmer* 87—84 %, tilsat henholdsvis før og efter deproteiniseringen.

Et vigtigt forhold af betydning for metodens paalidelighed er taget op til efterprøvning her:

Miljøets indflydelse paa reduktionen af metylenblaat.

I *Lund & Lieck's* meddelelse i 1936 anføres det, at metodens optimale pH-omraade er mellem pH 2 og 3. Denne brintionkoncentration angives sikret ved mængdeforholdet mellem den stærke syre og stødpudefopløsningen. pH-maalingerne blev udført med kinhydronelektrode. Senere fandt *Westergaard* og *Bræ-*

strup, at det optimale pH-omraade ligger noget højere, og dette er ogsaa blevet bekræftet ved følgende undersøgelser, hvor maa-lingerne er foretaget med en glaselektrode i forbindelse med et rørpotentiometer. Ved at benytte en særlig tynd kalomelelektrode er det muligt at foretage pH-maaling med det nævnte apparat i ganske smaa væskemængder, helt ned til 0,4 ml. Dette har været afgørende for muligheden for at foretage de følgende undersøgelser, hvor pH-bestemmelserne er foretaget paa 1—1,2 ml.

For at komme forholdene ved den sædvanlige *Lund & Lieck*-analyse saa nær som muligt med hensyn til saltkoncentrationer trods varieret pH, er der foruden den sædvanlige alkaliske stødpude anvendt en sur stødpude med samme fosfatkoncentration; den har følgende sammensætning:

KH_2PO_4 g 4,58, KCl g 10, aq. redest. ml 100.

Da det i talrige forforsøg viste sig, at en noget større væskemængde af disse stødpudeopløsninger i forhold til det deproteiniserede, sure serumcentrifugat end det oprindelige (0,6 + 0,4 ml), ikke ændrede titreringsresultatet, er der i de følgende forsøg brugt indtil 0,6 ml stødpude til at variere pH, dog undtaget de mest sure blandinger, hvor det var nødvendigt at anvende mindre stødpudemængder.

Analyserne er foretaget ganske paa sædvanlig maade, idet der ved gradvis tilsætning af metylenblaat og belysning er titreret til blivende svag, blaa farve. Der er i hver prøve bestemt den spontane reduktion og reduktionen af tilsat ascorbinsyre — tilsat efter deproteiniseringen — svarende til 1 mg pr. 100 ml i væsken, idet der er tilsat 0,1 ml af en 10 mg pr. 100 ml vandig ascorbinsyreopløsning. Paa alle prøverne er der foretaget maa-ling af pH, dels før og dels efter tilsætningen af metylenblaat, der i de her benyttede mængder ikke har forstyrret pH-maalingen. De i tabellerne anførte tal for pH er de *efter* titreringen fundne. Metylenblaatopløsningen er selv paa grund af sit fosfatindhold en kraftig stødpude med en pH paa 4,0. Dette har givet sig udslag i nogen forskydning af pH i de enkelte prøver henimod 4, idet pH i prøverne over 4 er aftaget og i prøverne med pH under 4 forøget under titreringen. Ændringerne har været mindst paa de prøver, hvis pH laa i nærheden af 4 og stigende

til begge sider efter mængden af den tilsatte metylenblaat til omkring 0,3 pH efter tilsætning af 0,5 ml metylenblaat.

Dobbeltbestemmelser er udført paa den maade, at den første analyse er foretaget med tilsætning af flere draaber metylenblaat ad gangen indtil titreringens afslutning. Man har herved faaet et skøn over endepunktets beliggenhed, der saa er endelig bestemt ved den næste titrering med langsom metylenblaattilsætning henimod titreringens afslutning. Det er det sidste titreringsresultat, som er anført.

Begrundelsen for denne fremgangsmaade er den af *Krogh* anførte: »Ved al præcisionsmaaling er det jo praktisk talt nødvendigt at kende resultatet med en vis tilnærmelse paa forhaand.« Man mener herved at være kommet til et nøjagtigere resultat, end tilfældet havde været ved at titrere 2 gange og tage gennemsnittet heraf. Da der til pH-miljobestemmelser kræves ret betydelige serum-mængder, svarende til 40—50 ml blod, og da dette er nær grænsen for, hvad man kan faa velvillige forsøgspersoner til at give, har det ikke været muligt at opnaa mere end de nævnte 2 bestemmelser af hver blanding.

Alle de 10 følgende pH-miljobestemmelser er udført paa sera fra sunde voksne. De to første er i kort tid forbehandlet med nogle doser ascorbinsyre for at faa en rimelig »spontan«-titer, de øvrige er undersøgt i jordbærsæsonen, hvorfor de alle havde en passende høj titer.

Forsøgsresultaterne er gengivet i tabel 1—10 og i figur 1—5; i tabellerne er anført de mængder af de 2 stødpudefopløsninger, som er benyttet til at variere pH.

Tabel 1.
Serum — pH-miljø 1.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 ÷ ²	pH*)
0,6		0,3		5	1,3
0,6		0,3	0,1	25	1,7
0,6		0,4		18	1,7
0,6		0,4	0,1	57	2,30
0,6		0,6		22	2,0
0,6		0,6	0,1	35	2,1
0,6	0,2	0,4		50	2,43
0,6	0,2	0,4	0,1	79	2,63
0,6	0,4			48	3,13
0,6	0,4		0,1	81	3,21
0,6	0,45	0,15		48	3,63
0,6	0,45	0,15	0,1	80	3,75
0,6	0,5	0,1		38	4,6
0,6	0,5	0,1	0,1	48	4,4
0,6	0,6			2	5,6
0,6	0,6		0,1	4	5,6

Tabel 2.
Serum — pH-miljø 2.

0,6		0,3		1	1,4
0,6		0,3	0,1	4	1,5
0,6		0,4		2	1,6
0,6		0,4	0,1	6	1,7
0,6	0,3	0,3		6	2,54
0,6	0,3	0,3	0,1	20	2,69
0,6	0,4	0,2		10	2,96
0,6	0,4	0,2	0,1	26	3,06
0,6	0,4			11	3,14
0,6	0,4		0,1	26	3,17
0,6	0,45	0,15		11	3,81
0,6	0,45	0,15	0,1	27	3,89
0,6	0,475	0,125		6	4,8
0,6	0,475	0,125	0,1	18	4,7
0,6	0,5	0,1		4	5,3
0,6	0,5	0,1	0,1	12	5,2
0,6	0,6			1	5,9
0,6	0,6		0,1	2	5,9

*) Anført med 2 decimaler mellem pH 2,2 og 4,2.

Tabel 3.
Serum — pH-miljø 3.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 $\pm$ 2	pH
0,6		0,3		2	2,2
0,6		0,3	0,1	5	2,2
0,6		0,5		8	2,80
0,6		0,5	0,1	27	2,35
0,6	0,3	0,3		9	2,22
0,6	0,3	0,3	0,1	29	2,28
0,6	0,4			8	3,44
0,6	0,4		0,1	29	3,48
0,6	0,45	0,15		8	3,71
0,6	0,45	0,15	0,1	27	3,70
0,6	0,475	0,125		8	4,2
0,6	0,475	0,125	0,1	28	4,2
0,6	0,5			4	5,3
0,6	0,5		0,1	13	5,4
0,6	0,6			1	6,0
0,6	0,6		0,1	2	6,0

Tabel 4.
Serum — pH-miljø 4.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 ÷ 2	pH
0,6		0,5		3	1,9
0,6		0,5	0,1	6	2,0
0,6	0,3	0,3		16	2,47
0,6	0,3	0,3	0,1	35	2,65
0,6	0,4			21	2,87
0,6	0,4		0,1	44	3,12
0,6	0,4	0,2		23	3,05
0,6	0,4	0,2	0,1	46	3,20
0,6	0,43	0,17		22	3,22
0,6	0,43	0,17	0,1	45	3,37
0,6	0,44			21	3,55
0,6	0,44		0,1	46	3,78
0,6	0,45			22	3,79
0,6	0,45		0,1	45	3,80
0,6	0,45	0,15		23	3,98
0,6	0,45	0,15	0,1	47	3,98
0,6	0,46	0,14		15	4,4
0,6	0,46	0,14	0,1	36	4,3
0,6	0,48	0,12		7	5,0
0,6	0,48	0,12	0,1	18	4,8
0,6	0,5			5	5,2
0,6	0,5		0,1	11	5,2
0,6	0,6			1	5,7
0,6	0,6		0,1	4	5,7

Tabel 5.
Serum — pH-miljø 5.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 ± 2	pH
0,6		0,6		5	2,0
0,6		0,6	0,1	12	2,1
0,6	0,4			12	2,64
0,6	0,4		0,1	30	2,80
0,6	0,38	0,22		22	2,84
0,6	0,38	0,22	0,1	37	2,96
0,6	0,42			21	2,96
0,6	0,42		0,1	36	3,05
0,6	0,45			21	3,40
0,6	0,45		0,1	36	3,52
0,6	0,47			20	3,83
0,6	0,47		0,1	37	3,89
0,6	0,45	0,15		21	3,99
0,6	0,45	0,15	0,1	36	3,96
0,6	0,49			11	4,5
0,6	0,49		0,1	23	4,4
0,6	0,55			4	5,3
0,6	0,55		0,1	9	

Tabel 6.
Serum — pH-miljø 6.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 ÷ 2	pH
0,6		0,4		3	1,4
0,6		0,4	0,1	7	1,6
0,6	0,2	0,4		6	2,1
0,6	0,2	0,4	0,1	10	2,2
0,6	0,3	0,3		13	2,39
0,6	0,3	0,3	0,1	26	2,51
0,6	0,4			17	2,66
0,6	0,4		0,1	29	2,80
0,6	0,45	0,15		16	3,24
0,6	0,45	0,15	0,1	28	3,34
0,6	0,475	0,125		16	3,80
0,6	0,475	0,125	0,1	28	3,85
0,6	0,48	0,12		15	4,00
0,6	0,48	0,12	0,1	27	4,00
0,6	0,49	0,11		12	4,3
0,6	0,49	0,11	0,1	25	4,2
0,6	0,5			8	4,6
0,6	0,5		0,1	22	4,5
0,6	0,6			2	5,6
0,6	0,6		0,1	4	5,6

Tabel 7.

Serum — pH-miljø 7.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 ÷ ²	pH
0,6		0,4		1	1,3
0,6		0,4	0,1	3	1,5
0,6	0,2	0,4		7	2,20
0,6	0,2	0,4	0,1	18	2,31
0,6	0,3	0,3		15	2,55
0,6	0,3	0,3	0,1	29	2,64
0,6	0,35	0,25		20	2,76
0,6	0,35	0,25	0,1	38	2,91
0,6	0,4			19	2,96
0,6	0,4		0,1	39	3,17
0,6	0,4	0,2		20	3,01
0,6	0,4	0,2	0,1	40	3,22
0,6	0,44	0,16		21	3,74
0,6	0,44	0,16	0,1	39	3,80
0,6	0,45	0,15		20	4,2
0,6	0,45	0,15	0,1	40	4,2
0,6	0,46	0,14		14	4,4
0,6	0,46	0,14	0,1	29	4,4
0,6	0,5	0,1		5	5,2
0,6	0,5	0,1	0,1	10	5,1
0,6	0,6			2	5,8
0,6	0,6		0,1	3	5,8

Tabel 8.
Serum — pH-miljø 8.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 ÷ ²	pH
0,6	0,25	0,35		3	1,7
0,6	0,25	0,35	0,1	6	1,7
0,6	0,3	0,3		8	2,47
0,6	0,3	0,3	0,1	26	2,71
0,6	0,32	0,28		14	2,76
0,6	0,32	0,28	0,1	33	2,91
0,6	0,4			15	3,17
0,6	0,4		0,1	33	3,32
0,6	0,41	0,19		14	3,39
0,6	0,41	0,19	0,1	34	3,54
0,6	0,42	0,18		14	3,69
0,6	0,42	0,18	0,1	33	3,76
0,6	0,43	0,17		14	3,98
0,6	0,43	0,17	0,1	34	3,98
0,6	0,44	0,16		14	4,3
0,6	0,44	0,16	0,1	33	4,2
0,6	0,46	0,14		8	4,8
0,6	0,46	0,14	0,1	16	4,7
0,6	0,5	0,1		6	5,2
0,6	0,5	0,1	0,1	13	5,1
0,6	0,6			2	5,8
0,6	0,6		0,1	5	5,8

Tabel 9.
Serum — pH-miljø 9.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 $\pm$ 2	pH
0,6	0,25	0,35		6	2,30
0,6	0,25	0,35	0,1	11	2,38
0,6	0,3	0,3		9	2,58
0,6	0,3	0,3	0,1	16	2,63
0,6	0,32	0,28		12	2,71
0,6	0,32	0,28	0,1	27	2,81
0,6	0,35	0,25		15	2,88
0,6	0,35	0,25	0,1	28	3,00
0,6	0,4			14	3,29
0,6	0,4		0,1	28	3,40
0,6	0,39	0,21		15	3,47
0,6	0,39	0,21	0,1	27	3,53
0,6	0,4	0,2		14	3,64
0,6	0,4	0,2	0,1	27	3,71
0,6	0,41	0,19		15	4,2
0,6	0,41	0,19	0,1	28	4,2
0,6	0,43	0,17		9	4,6
0,6	0,43	0,17	0,1	20	4,6
0,6	0,45	0,15		5	5,0
0,6	0,45	0,15	0,1	12	4,9
0,6	0,5	0,1		4	5,5
0,6	0,5	0,1	0,1	9	5,3
0,6	0,6			1	5,9
0,6	0,6		0,1	3	5,9

Tabel 10.
Serum — pH-miljø 10.

deproteiniseret serum ml	alkalisk stødpude ml	sur stødpude ml	Ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml ml	Metylenblaat ml. 10 ÷ ²	pH
0,6	0,25	0,35		4	2,34
0,6	0,25	0,35	0,1	8	2,38
0,6	0,3	0,3		7	2,53
0,6	0,3	0,3	0,1	14	2,59
0,6	0,32	0,28		11	2,64
0,6	0,32	0,28	0,1	17	2,73
0,6	0,35	0,25		14	2,83
0,6	0,35	0,25	0,1	24	2,91
0,6	0,37	0,23		15	3,03
0,6	0,37	0,23	0,1	25	3,11
0,6	0,4	0,2		14	3,34
0,6	0,4	0,2	0,1	24	3,46
(0,6	0,4				3,27)
0,6	0,41	0,19		15	3,78
0,6	0,41	0,19	0,1	25	3,81
0,6	0,42	0,18		15	4,12
0,6	0,42	0,18	0,1	25	4,12
0,6	0,43	0,17		15	4,2
0,6	0,43	0,17	0,1	24	4,2
0,6	0,44	0,16		6	4,7
0,6	0,44	0,16	0,1	11	4,7
0,6	0,5			3	5,5
0,6	0,5		0,1	6	5,4

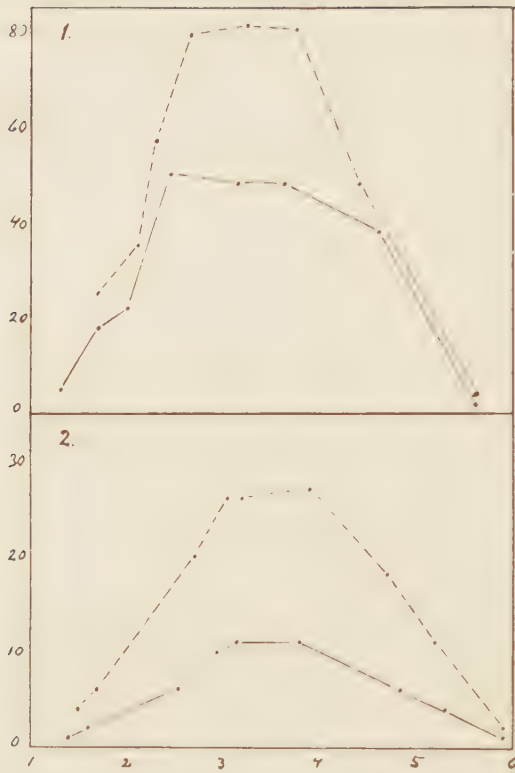


Fig. 1. Serum — pH-miljø 1 & 2.

Abscisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-3} . Nederste kurve: spontan reduktion, øverste kurve: spontan reduktion + reduktionen af tilsat ascorbinsyre (0,1 ml 10 mg pr. 100 ml).

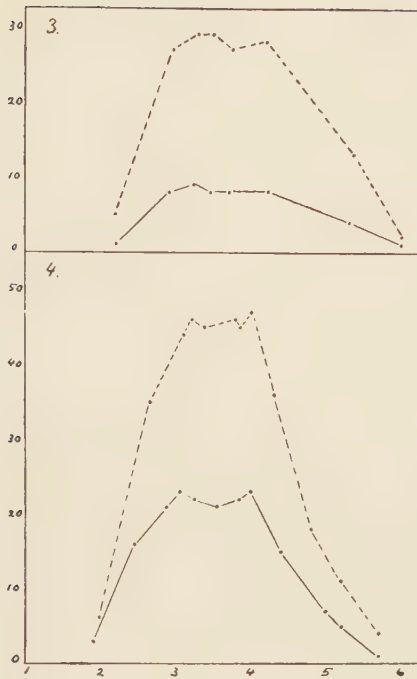


Fig. 2. Serum — pH-miljø 3 & 4.

Abscisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . Nederste kurve: spontan reduktion, øverste kurve: spontan reduktion + reduktionen af tilsat ascorbinsyre (0,1 ml 10 mg pr. 100 ml).

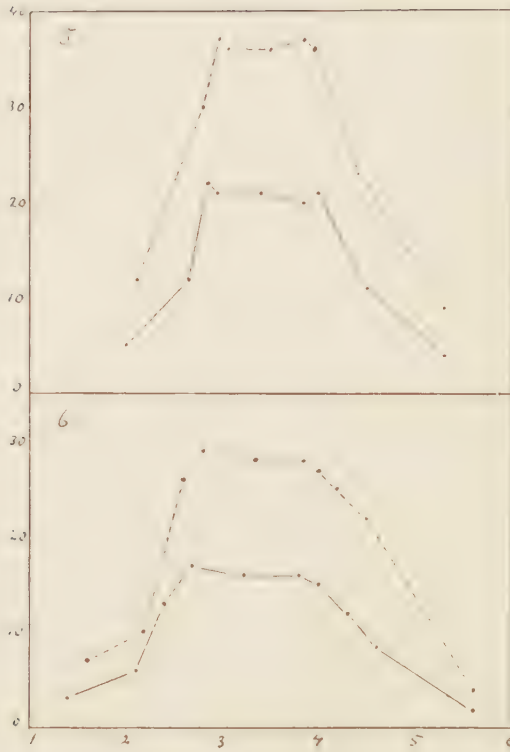


Fig 3. Serum — pH-miljø 5 & 6.

Abseisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . Nederste kurve: spontan reduktion, øverste kurve: spontan reduktion + reduktionen af tilsat ascorbinsyre (0,1 ml 10 mg pr. 100 ml).

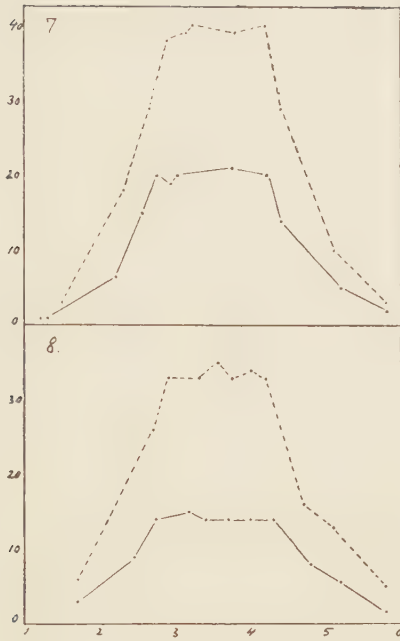


Fig. 4. Serum — pH-miljø 7 & 8.

Abscisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . Nederste kurve: spontan reduktion, øverste kurve: spontan reduktion + reduktionen af tilsat ascorbinsyre (0,1 ml 10 mg pr. 100 ml).

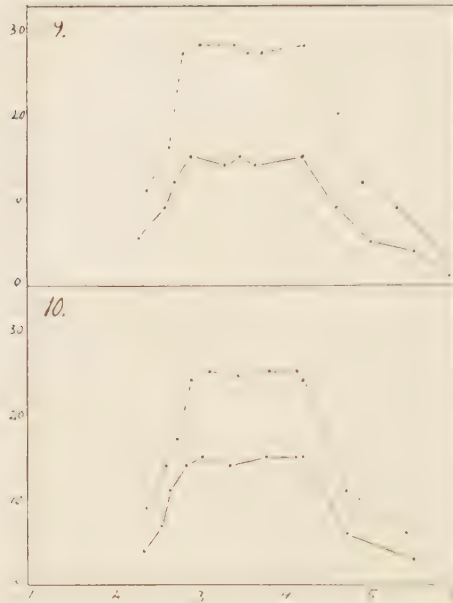


Fig. 5. Serum — pH-miljø 9 & 10.

Abscisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . Nederste kurve: spontan reduktion, øverste kurve: spontan reduktion + reduktionen af tilsat ascorbinsyre (0,1 ml 10 mg pr. 100 ml).

Diskussion.

De 10 pH-miljøbestemmelser viser, at metodens højeste følsomhed er begrænset til et pH-område, der kun varierer lidt for forskellige sera. Samlet under et er de fundne grænser for plateauet opført i tabel 11, hvor der desuden i sidste kolonne findes anført den pH, som er fundet ved den originale metode med tilsætning af 0,4 ml alkalisk stoppude.

Tabel 11.

pH-grænserne for den maximale reduktion af metylenblaat ved titrering af serumascorbinsyre og for serumascorbinsyre + tilsat ascorbinsyre.

(Sidste kolonne viser pH-bestemmelse af Lund & Liecks originale blanding af deproteiniseret serum og alkalisk stødpude).

Nr.	Serumascorbinsyre		Serumasc. + tilsat asc.		L. & L.
	lavest	højst	lavest	højst	
1	2,43	3,63	2,63	3,75	3,13
2	2,96	3,81	3,06	3,89	3,14
3	2,89	4,20	2,95	4,20	3,45
4	2,87	3,98	3,12	3,96	2,87
5	2,84	3,99	2,96	3,96	2,64
6	2,66	4,00	2,80	4,00	2,66
7	2,76	4,20	2,91	4,20	2,96
8	2,76	4,3	2,91	4,20	3,17
9	2,88	4,20	2,81	4,20	3,29
10	2,83	4,20	2,91	4,20	3,27

I de sidste 6 forsøg er det lykkedes at faa særlig snævre pH-intervaller i plateauets grænseomraade. Af disse 6 forsøg og støttet af de 4 første fremgaar følgende:

- 1) Metoden har et plateau beliggende mellem pH ca. 2,8 og 4,2.
- 2) Plateauet synes at være ens beliggende for serumascorbinsyre og for syntetisk ascorbinsyre tilsat til det deproteiniserede serum.
- 3) Udenfor plateauet aftager titeren stejlt, idet den er reduceret til ca. halvdelen ved en pH 0,5 højere eller lavere end plateauets grænse.
- 4) Kurven synes at være symmetrisk.
- 5) Kun en af de 10 prøver udført med *Lund & Lieck's* originale metodik ligger udenfor plateauet for vedkommende serum (nr. 5); de øvrige ligger i det optimale omraade.

At dette er noget, man maa vente af og til, fremgaar endvidere af tabel 12, der viser beliggenheden af pH af 77 fortløbende Lund & Lieck-analyser udført i løbet af 3 mdr.

Tabel 12.

pH-bestemmelse paa 77 Lund & Lieck-analyser.

pH	2,1	2,5	2,6	2,7	2,8—4,2	> 4,2
Antal	1	0	5	8	61	2

Åf tabel 12 fremgaar, at 21 % af disse 77 analyser med den originale stødpudefilsætning ligger udenfor pH-området mellem 2,8 og 4,2, og 10 % udenfor 2,7—4,2. Man kan altsaa vente en betydelig nedsættelse af titeren i hver 10ende analyse.

For at undgaa dette er det derfor nødvendigt at kontrollere pH ved hver prøve og eventuelt ændre stødpudefilsætningen inden titreringens udførelse.

De fleste pH'er udenfor plateauet ligger for lavt. Man kunde — da de fleste indenfor plateauet ogsaa ligger ret lavt — gøre den alkaliske stødpudefilsætning lidt stærkere eller tilsætte en ubetydelig mængde mere end den angivne mængde paa 0,4 ml. Men da der ogsaa er enkelte prøver, der viser for høj pH, er dette dog næppe tilraadeligt. For at være helt sikker paa analyseresultatet maa en pH-bestemmelse foretages inden metylenblaattilsætningen, og pH maa eventuelt ændres til det optimale ved tilsætning af smaa mængder stødpudefilsætning eller syre.

Ved hjælp af glaselektrode og rorpotentiometer er pH-bestemmelse en nem og hurtig ting; i mangel af dette apparatur kan man uden vanskelighed benytte indikatorpapir, f. ex. Metack eller Lyphan, der tillader en aflæsning med nøjagtighed omkring 0,1 pH (*Dagulf*).

Aarsagen til den vekslende pH i serum-stødpudefblandingerne er bl. a. diskuteret af *Dagulf*, der i 10 prøver finder pH mellem 2,8 og 4. Han mener, at pH-variationen skyldes vekslende proteinindhold i de forskellige sera, og anfører, at det derfor er principielt forkert at tilsætte en konstant stødpudefmængde. Til undersøgelse af dette spørgsmaal er der i de 6 sidste pH-miljøforsøg foretaget bestemmelse af serumproteinmængden med *Bing's* glasperle. Resultatet ses i tabel 13 sammenstillet med resultatet af pH-bestemmelserne paa vedkommende sera ufortyndet og i blandingen af deproteiniseret serum og stødpudef, rækkefølgen er med stigende koncentration af protein.

Tabel 13.

Bestemmelse af ufortyndet serums proteinindhold og pH,
og pH paa Lund & Lieck-analyser.

Nr.	Protein a. m. Bing	pH	
		ufort. serum*)	deprot. serum — stødpudeblanding
9	5,9	7,5	3,29
5	6,0	7,6	2,64
7	6,1	7,5	2,96
8	6,2	7,6	3,17
10	6,2	7,4	3,27
6	6,3	7,6	2,66

Efter disse faa orienterende undersøgelser synes serum-stødpudeblandingsens pH ikke at afhænge af smaa forandringer af seras proteinindhold eller brintionkoncentration, som kun er anført med 1 decimal, da den benyttede glaselektrode ikke er særlig følsom ved høje pH-værdier.

Den nøjagtighed, hvormed de forskellige væsker afpipetteres, er sandsynligvis den mest afgørende faktor. Dette ses med overordentlig tydelighed i kolonnerne for de tilsatte stødpudemængder, især i tabellerne 6—10. Det fremgaar af disse, at blot ændring af de 2 stødpudeopløsningers rumfang med 0,01 ml hver giver en pH-ændring af blandingerne mellem 0,1 og 0,5 pH. Dette maa opfordre til den yderste omhyggelighed og nøjagtighed ved alle de afpipetteringer, som analysen kræver.

Andre forhold vedrørende *Lund & Lieck's* metode er i en nylig publiceret meddelelse af *Kirk & Warburg* gjort til genstand for udførlige undersøgelser. De finder flere betydende faktorer for analysens brug: Den i væsken fysisk opløste ilt synes at indgaa i titreringen, men den er af større betydning ved titrering i vand end ved titrering i trikloreddikesyre-stødpudeblandinger. Overensstemmende med *Lund & medarbejdere* og *Backman* viser de, at ascorbinsyre tilsat til ufortyndede sera forbruger varierende mængder af metylenblaat afhængig af serum og i nogle tilfælde ogsaa af ascorbinsyrekoncentrationen. Det

*) Kun anført med 1 decimal, da den benyttede glaselektrode har mindre følsomhed ved høj end ved lav pH.

gennemsnitlige metylenblaatforbrug (ved 25 analyser paa 14 forskellige sera) findes til praktisk talt samme størrelse som gennemsnitlig anvendes til titrering af den i serum spontant tilstedeværende ascorbinsyre — bestemt ud fra resultaterne af *Farmer & Abt*-titreringer.

I de her foretagne analyser (pH-miljø 1—10) er beligheden af det optimale omraade for titrering af tilsat ascorbinsyre undersøgt efter tilsætning af ascorbinsyre til det deproteiniserede serum. Det fundne metylenblaatforbrug (i $\frac{1}{100}$ ml) for 0,01 mg tilsat ascorbinsyre har været forskellig fra prøve til prøve: 31 — 16 — 21 — 23 — 15 — 12 — 20 — 19 — 13 — 10 — eller udtrykt i procent af metylenblaatforbruget for samme ascorbinsyremængde i rent vand: 44 — 23 — 30 — 33 — 21 — 17 — 29 — 27 — 19 — 14; gennemsnitlig 26 %. Dette gennemsnitstal er kun halvdelen af det gennemsnitlige forbrug, som *Kirk & Warburg* finder ved tilsætning af ascorbinsyre til serum inden deproteiniseringen; men denne forskel er i god overensstemmelse med de af *Lund & medarbejdere* fundne forskelle i metylenblaatforbruget ved titrering i 7 sera, hvor der gennemsnitlig ved tilsætning af ascorbinsyre efter deproteiniseringen kun er forbrugt 46 % af forbruget ved tilsætning af samme mængde ascorbinsyre til serum inden deproteiniseringen.

Til gengæld svarer det her fundne gennemsnitlige forbrug for tilsat ascorbinsyre paa 26 % godt til den omregningstakt paa 4, som er nærmere omtalt paa side 70. Dette betyder, at der ved disse undersøgelser — ligesom ved *Kirk & Warburg's* — er fundet gennemsnitlig samme metylenblaatforbrug for genuin og for tilsat ascorbinsyre.

pH-miljø forsøgene nr. 4 — 5 — 7 og 8 — 9 — 10, der gruppevis har omtrent samme spontane metylenblaatforbrug, har vidt forskellige forbrug for samme mængde tilsat ascorbinsyre; nr. 1 med det højeste spontane forbrug har ogsaa det største forbrug for tilsat ascorbinsyre, mens nr. 3 med det laveste spontane forbrug har det 3. højeste metylenblaatforbrug for tilsat ascorbinsyre. I disse sera (nr. 1 undtaget?) er forskellen i metylenblaatforbruget for tilsat ascorbinsyre altsaa næppe afhængig af den spontane reduktion.

Kirk & Warburg redegør for de ændringer, der kommer i

titreringsresultatet ved forskellige fortyndinger af sera, for Ferri- og Cupriioners hæmmende indflydelse ned til en koncentration paa 10^{-6} molar, hvor den omtrent ophører, og for de forskellige, der er ved anvendelse af forskellige metylenblaatpræparater.

De konkluderer, at metoden maa betragtes som givende usikrere resultater end titrering efter *Farmer & Abt.*

Enkelte forhold berørt i *Kirk & Warburg's* afhandling skal omtales nærmere: Det anføres, at der under standardisering af metylenblaat overfor vandig ascorbinsyre af koncentrationen 1 mg pr. 100 ml finder en spontan destruktion sted, idet gentagne titreringer giver lavere titre. Dette er i overensstemmelse med egne iagttagelser; ogsaa naar ascorbinsyren findes i redestilleret vand, der er saa frit for metalioner som praktisk opnaaeligt, er der en spontan destruktion, naar opløsningens styrke er 1 mg pr. 100 ml. I modsætning hertil er det en erfaring i Hygiejnisk Institut, at 10 mg pr. 100 ml ascorbinsyreopløsning i redestilleret vand er langt mere holdbar, saaledes at den — opbevaret ved stuetemperatur uden direkte sollys — er holdbar i $1\frac{1}{2}$ —2 timer. Dette er benyttet i de i de sidste aar udførte standardiseringer af metylenblaatopløsninger ved at standardisere overfor 0,1 ml 10 mg pr. 100 ml ascorbinsyre i stedet for overfor 1 ml 1 mg pr. 100 ml.

Kirk & Warburg anfører endvidere, at standardisering udført efter *Lund & Lieck's* anvisning tager 7—15 minutter. Dette er betydelig længere tid end den her benyttede, der naturligvis afhænger af, hvor store mængder metylenblaat, der tilsættes ad gangen og af aflæsningstempoet. Til nærværende arbejde har standardiseringen kun taget 4—5 minutter. For at undersøge om denne forskel giver sig udslag i faktorens størrelse, er faktorbestemmelse af en metylenblaatopløsning bestemt med tilsætning af varierende metylenblaatmængder:

- | | | |
|---|-------|-----------------|
| 1) $0,10 \times 6 + 0,04 \times 2 + 0,02 =$ | 0,70. | Varighed 6 min. |
| 2) $0,15 \times 4 + 0,05 + 0,04 =$ | 0,69. | » 4¾ min. |
| 3) $0,05 \times 14 =$ | 0,70. | » 9 min. |

At en forlænget belysning er uden indflydelse, fremgaar af følgende titrering:

- 4) $0,10 \times 5$. Herefter henstand i køleapparat med belysning i 5 minutter, titreringen fortsættes med tilsætning af $0,10 \times 2 = 0,70$. Varighed ialt $10\frac{1}{2}$ min.
En afbrydelse af titreringen ændrer ikke titeren:
- 5) $0,10 \times 5$. Efter affarvningen henstand i køleapparatet i mørke i 5 minutter. Herefter er farven gendannet, men den forsvinder efter $\frac{1}{2}$ minuts belysning ligesom før. Titreringen er fortsat med tilsætning af $0,10 + 0,05 + 0,05 = 0,70$. Varighed 11 min.

Disse forsøg er gentaget med samme udfald. Det kan herat sluttes, at der næppe finder nogen maalelig iltning af ascorbinsyre sted under titreringens udførelse paa denne maade undtagen den, der indgaar i reaktionen med metylenblaat; endvidere at den gendannelse af metylenblaat, der finder sted under henstand i mørke, ikke indvirker paa titreringsresultatet.

Kirk & Warburg anfører følgende metylenblaattorbrug ved titreringen af 100 γ ascorbinsyre: 8,0; 8,3; 8,5; 8,9; 8,5; 8,5; 8,5; 8,5; 8,0. Da disse titreringer formentlig er udført med noget forskellig hastighed (7—15 minutter?), og da de fundne titre kun varierer ret lidt, er det sandsynligt, at der ogsaa ved titerbestemmelser overfor 1 mg pr. 100 ml ascorbinsyreopløsning findes de samme forhold som ved titrering overfor 10 mg ascorbinsyre, og at den spontane destruktion ikke er af afgørende betydning.

Yderligere viser Kirk & Warburg, at man ved at anvende en omregningsfaktor til beregning af metylenblaattiteren faar en brugelig overensstemmelse mellem de ved Lund & Lieck- og Farmer & Abt-titreringer opnaaede resultater. En nærmere omtale af omregningsfaktoren ved disse analysemetoder findes paa side 69.

Paa grundlag af den — paa side 34 omtalte iagttagelse, at metylenblaattiteren for ascorbinsyre tilsat til serum gav en højere værdi end metylenblaattiteren for ascorbinsyre tilsat til samme serum efter deproteiniseringen med trikloreddikesyre, mente Lund & medarbejdere at kunne konkludere, at dette kunde tyde paa, at ascorbinsyre kan opfattes som et forstadium til C-vitaminet. En støtte for denne hypotese mente Lund & Trier at finde i resultatet af sammenlignende undersøgelser mellem Lund & Lieck-analyser og en lignende metylenblaatrek-

tion, hvor der som fældningsmiddel anvendes blyacetat i stedet for trikloreddikesyre. Denne reaktion — udført som mikrometode — synes at give samme spontane ascorbinsyretiter som *Lund & Lieck's* metode, men samtidig samme metylenblaatforbrug for tilsat ascorbinsyre i serum og i rent Vand.

En nærmere undersøgelse af den foreslaaede modifikation — udført som mikrometode — har imidlertid vist, at ogsaa denne i mange sera har et lavere metylenblaatforbrug for tilsat ascorbinsyre end for samme mængde opløst i rent vand; — ligesom tilfældet er ved mange sera analyseret efter *Lund & Lieck's* metode.

Disse forhold i forbindelse med *Kirk & Warburg's* paavisning af usikkerhedsmomenterne ved metylenblaat-reaktionen mener jeg maa begrunde, at den af *Lund & medarbejdere* fremsatte hypotese ikke længere kan opretholdes paa det foreliggende grundlag.

Kapitel 2

UNDERSØGELSER OVER ASCORBINSYRE I URIN MED METYLENBLAATREAKTIONEN

De i nærværende arbejde udførte bestemmelser af ascorbinsyre i urin er foretaget med den af *Lund* i 1937 beskrevne metode. Denne metode er ligesom serummetoden baseret paa en reduktion af metylenblaat under belysning i et specielt saltmiljø. *Lund* viste, at der findes et kvantitativt forhold mellem mængden af tilstedeværende ascorbinsyre og den reducerede mængde metylenblaat, at metoden i talrige forskellige urinprøver ikke viste nogen spontan reduktion, og at den er specifik og kvantitativ for tilsatte mængder.

Lund's resultater er blevet bekræftet fuldt ud af *Widenbauer & Salm* efter 65 undersøgelser, idet de dog tilføjer: »In ganz vereinzeltten Fällen wurde von uns eine Tagesausscheidung bis zu 2 mg Vitamin C festgestellt. Ob es sich dabei um Ascorbinsäure handelte oder ob die Methode bei konzentrierteren Harnen bisweilen unspezifisch ist, können wir noch nicht entscheiden.« — Og senere résumées: »Die Bestimmungsmethode für Ascorbinsäure im Harn nach Lund scheint im allgemeinen verhältnismässig spezifisch zu sein und lässt einen Ascorbinsäurezusatz zum Harn vollständig wiederfinden. Sie dürfte daher die zur Zeit beste Methode sein.« Disse udtalelser refereres udførligt her, fordi *Widenbauer's* talrige vitaminstudier bærer præg af stor omhyggelighed og soberhed. Den refererede afhandling omhandler talrige C-vitaminbestemmelser udført — foruden med *Lund's* metode — med 4 andre metoder: de af *Hamel* og *Wachholder & Podesta* angivne, sidstnævnte med 2 forskellige koncentrationer af sulfosalicylsyre og endelig med *Harris & Ray's* metode. Alle disse forkastes.

Tabel 14.

Sammenlignende undersøgelser af Lund's I. og II. urinmetode.

Nr.	uform. urin pH	I. urinmetode*)				II. urinmetode**)			
		Metylenblaat ml. 10 ÷ 2		pH		Metylenblaat ml. 10 ÷ 2		pH	
		spontant	efter tils.	spontant	efter tils.	spontant	efter tils.	spontant	efter tils.
1	6,6	0	48	3,9	4,3	0	16	3,7	3,8
2	6,4	0	46	4,0	4,1	0	23	3,7	3,7
3	6,5	0	46	3,9	4,4	0	18	3,7	3,7
4	6,4	0	54	4,2	4,2	0	20	3,9	3,8
5	5,3	0	50	3,7	4,2	0	33	3,6	3,6
6	7,0	0	45	4,1	4,4	0	36	3,6	3,8
7	6,4	0	52	4,0	4,2	0	26	3,9	4,2
8	6,4	0	55	3,9	4,1	0	44	3,8	3,9
9	8,0	0	46	4,0	4,1	0	37	4,0	4,1
10	5,9	0	48	3,9	3,9	0	30	3,9	3,9
11	6,6	0	47	4,1	4,2	0	27	3,8	3,8
12	6,9	0	45	4,2	4,2	0	41	3,7	3,8
13	6,3	0	47	4,3	4,5	0	27	3,9	4,0
14	6,9	0	45	3,6	3,8	0	25	3,9	4,2
15	6,4	0	52	3,9	4,2	0	23	3,8	3,7
16	6,3	0	47	3,9	4,2	0	34	3,8	3,8
17	6,5	0	51	3,8	4,0	0	33	3,9	4,0

Lund's og Widenbauer & Salm's resultater er bekræftet fuldt ud i det her foreliggende materiale.

Metodens udførelse er følgende: 0,1 ml af urinprøven fortyndes med 0,9 ml aq. destill. i titreringsglasset, tilsættes en spatelfuld NaCl og en knivspids KH_2PO_4 og titreres med en alkoholisk metylenblaatopløsning (96 % alkohol), indtil fuldstændig affarvning ikke opnaas ved belysning i 30 sekunder.

Lund har senere (1938—39) modificeret metoden ved at anvende en vandig, alkoholholdig fortyndingsvæske indeholdende NaCl og KH_2PO_4 . Herved opnaas, at urinen ved fortynding tilføres salte og alkohol i bestemt mængde, og at titreringen kan udføres med den samme vandige metylenblaatopløsning, som bruges til serumtitreringen.

*) Tilsat ascorbinsyreopløsning 0,05 ml 10 mg pr. 100 ml. Ventelig titer 50. ml. $10 \div 2$.

**) Tilsat ascorbinsyreopløsning 0,10 ml 10 mg pr. 100 ml. Ventelig titer 70. ml. $10 \div 2$.

Denne modifikation er i større arbejder benyttet af *Bræstrup* og *Dagulf*. En efterprøvning af den modificerede metode viser imidlertid, at den ikke — som angivet af *Lund* — tillader at genfinde tilsat ascorbinsyre kvantitativt:

Der blev foretaget nogle sammenlignende titreringer af urinprøver med begge metoder, resultatet er opstillet i tabel 14.

Af tabel 14 fremgaar følgende:

- 1) Ufortyndet urins pH har ingen tydelig indflydelse paa titreringsblandingsens pH.
- 2) Med den originale metode genfindes tilsatte ascorbinsyremængder kvantitativt indenfor forsøgsfejlen med 90—110 %.
- 3) Med den modificerede metode paavises tilstedeværelsen af alle tilsatte mængder, men de genfindes kun med 23—63 %.
- 4) Ingen af urinerne viste spontan reduktion (blindværdi henholdsvis 0,02 og 0,01 ml).
- 5) Metodernes pH ligger omkring 4,0.

Efter det enstydede resultat, at tilsatte ascorbinsyremængder ikke genfindes kvantitativt med den modificerede metode, maa den betragtes som et tilbageskridt i forhold til den originale, der baade er specifik og kvantitativ. Ved sammenlignende urinundersøgelser med diklortenolindofenol og *Lund II* kom *Dagulf* (disp. side 145—47) ligeledes til det resultat, at *Lund II* ikke er kvantitativ. Den modificerede metode maa altsaa fraraades. Trods dette vil de med metoden fundne resultater dog stadig beholde nogen værdi, da den giver indtryk af grovere kvalitative ændringer i urinens ascorbinsyrekoncentration.

Før at undersøge om der ogsaa ved urintitreringen findes et pH-omraade ligesom ved serumtitreringen er dette undersøgt paa følgende maade:

Det viste sig i indledende forsøg, at mættede saltblandinger af klorider og fosfater med pH omkring 4,0 kunde anvendes som fortyndingsvæske til urin og sikre kvantitativ genfindelse af tilsatte ascorbinsyremængder.

Urinmetodens pH-miljø blev undersøgt ved hjælp af varierede mængder af følgende 3 opløsninger, hvori der er den størst mulige klorid- og fosfatkoncentration:

- I. $\text{NaCl} + \text{KH}_2\text{PO}_4$ mættet i aq. redest., pH 3,0.
- II. H_3PO_4 85 % g 25,4 opløst i mættet NaCl -opløsning (samme fosfatkoncentration som I), pH 0,1.
- III. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ mættet i mættet NaCl -opløsning (fosfatkoncentration ca. $\frac{2}{3}$ af I og II's), pH 8,9.

Urin-pH-bestemmelserne er foretaget paa 10 urinprøver fra 6 sunde voksne normale individer. I 4 af forsøgene, foretaget i jordbærsæsonen, var der spontant reduktion, mens de øvrige ikke viste nogen spontan reduktion. I disse er der tilsat opløsning af ascorbinsyre i vand i et saadant mængdeforhold, at den tilsatte mængde ascorbinsyre har reduceret 0,3 ml metylenblaat. Denne mængde er den mest passende til disse undersøgelser, idet tilsætning af 0,4—0,5 ml alkoholisk metylenblaat giver uklarhed i væsken paa grund af begyndende udsaltning.

Med store spontane mængder ascorbinsyre i urinen maa der altsaa foretages fortynding for at opnaa kvantitative resultater.

Resultatet af pH-miljøbestemmelserne i urin fremgaar af figur 6—10 og tabel 15—19.

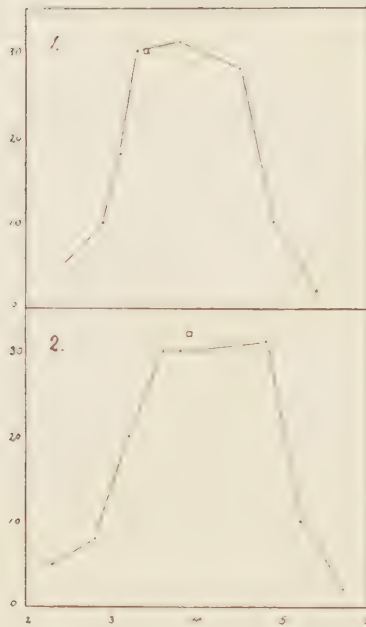


Fig. 6. Urin — pH-miljø 1 & 2.

Abscisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . Kurverne viser reduktionen af tilsat ascorbinsyre.

Tabel 15.

Urin — pH-miljø 1 & 2.

	Fortyndings- væske ml			Mb. ml. 10 ÷ °	pH	Bemærkninger
	I	II	III			
Lund I				< 2	3,6	
»				30	3,4	ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml 3 ml + urin 7 ml
	0,2	0,4	0,3	5	2,4	»
	0,25	0,35	0,3	10	2,9	»
	0,15	0,4	0,35	18	3,1	»
	0,9			30	3,3	»
	0,85	0,05	0,1	31	3,8	»
	0,8		0,1	28	4,5	»
	0,7		0,2	10	4,9	»
	0,6		0,3	2	5,4	»
Lund I				< 2	3,8	
»				32	3,9	ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml 3 ml + urin 7 ml
	0,4	0,3	0,2	5	2,3	»
		0,5	0,4	10	2,8	»
	0,2	0,4	0,3	20	3,2	»
	0,9			30	3,6	»
	0,85	0,05	0,1	30	3,8	»
	0,8		0,1	31	4,8	»
	0,7		0,2	10	5,2	»
	0,7		0,3	2	5,7	»



Fig. 7. Urin — pH-miljø 3 & 4.

Abscisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . I 3. forsøg viser kurven den spontane reduktion, i 4. forsøg reduktionen af tilsat ascorbinsyre.

Tabel 16.

Urin — pH-miljø 3 & 4.

	Fortyndings- væske ml			Mb. ml. 10 ÷ ²	pH	Bemærkninger
	I	II	III			
Lund I				35	3,3	Spontan reduktion
	0,95	0,05		3	2,1	»
	0,25	0,4	0,35	8	2,4	»
		0,5	0,4	15	2,9	»
	0,8	0,1	0,1	35	3,2	»
	0,85	0,05	0,1	35	3,8	»
	0,9		0,1	34	4,3	»
	0,8		0,2	18	4,9	»
	0,7		0,3	10	5,3	»
Lund I				< 2	3,7	
»				30	3,8	ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml 3 ml + urin 7 ml
	0,95	0,05		9	2,3	»
	0,25	0,4	0,35	15	2,8	»
	0,9			31	3,3	»
	0,2	0,4	0,4	32	3,5	»
	0,85	0,05	0,1	31	4,1	»
	0,9		0,1	30	4,4	»
	0,8		0,2	20	4,8	»
	0,7		0,3	10	5,2	»

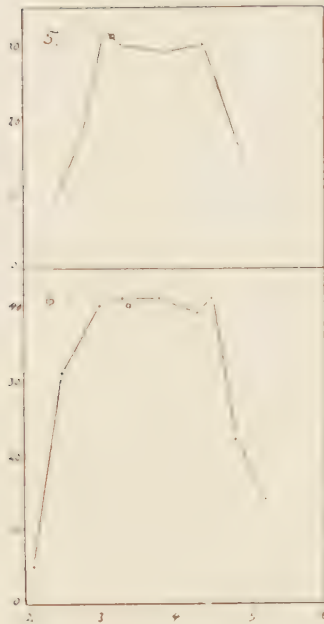


Fig. 8. Urin — pH-miljø 5 & 6.

Abscisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . I 5. forsøg viser kurven reduktionen af tilsat ascorbinsyre, i 6. forsøg den spontane reduktion.

Tabel 17.

Urin — pH-miljø 5 & 6.

	Fortyndings- væske ml			Mb. ml. 10 ÷ 2	pH	Bemærkninger
	I	II	III			
Lund I				2	3,2	
»				31	3,2	ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml 3 ml + urin 7 ml
	0,25	0,4	0,35	9	2,4	»
		0,5	0,4	18	2,8	»
	0,8	0,1	0,1	32	3,1	»
	0,9			30	3,3	»
	0,85	0,05	0,1	29	3,9	»
	0,9		0,1	30	4,4	»
	0,8		0,2	15	4,9	»
Lund I				40	3,4	Spontan reduktion af urinen fortyndet med vand 1 + 7
	0,9		0,1	5	2,1	»
	0,25	0,4	0,35	31	2,5	»
	0,8	0,1	0,1	40	3,0	»
	0,9			41	3,3	»
	0,85	0,05	0,1	41	3,8	»
	0,9		0,1	39	4,3	»
	0,8		0,1	41	4,5	»
	0,8		0,2	22	4,8	»
	0,7		0,2	14	5,2	»

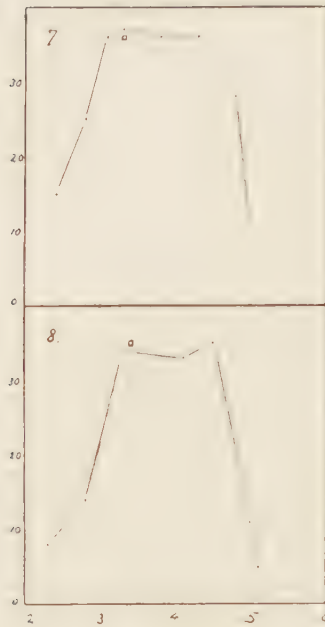


Fig. 9. Urin — pH-miljø 7 & 8.

Abscisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . I 7. forsøg viser kurven reduktionen af tilsat ascorbinsyre, i 8. forsøg den spontane reduktion.

Tabel 18.
 Urin — pH-miljø 7 & 8.

	Fortyndings- væske ml			Mb. ml. $10 \div 2$	pH	Bemærkninger
	I	II	III			
Lund I				5	3,3	
»				36	3,3	ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml 3 ml + urin 7 ml
	0,25	0,4	0,35	15	2,4	»
		0,5	0,4	25	2,8	»
	0,8	0,1	0,1	36	3,1	»
	0,9			37	3,3	»
	0,85	0,05	0,1	36	3,8	»
	0,9		0,1	36	4,3	»
	0,8		0,1	28	4,8	»
	0,8		0,2	10	5,0	»
Lund I				35	3,4	Spontan reduktion af urinen fortyndet 1 + 1
		0,5	0,45	8	2,3	»
	0,8	0,1	0,1	14	2,8	»
	0,9			34	3,3	»
	0,85	0,05	0,1	33	4,1	»
	0,9		0,1	35	4,5	»
	0,8		0,2	11	5,0	»
	0,7		0,2	5	5,1	»

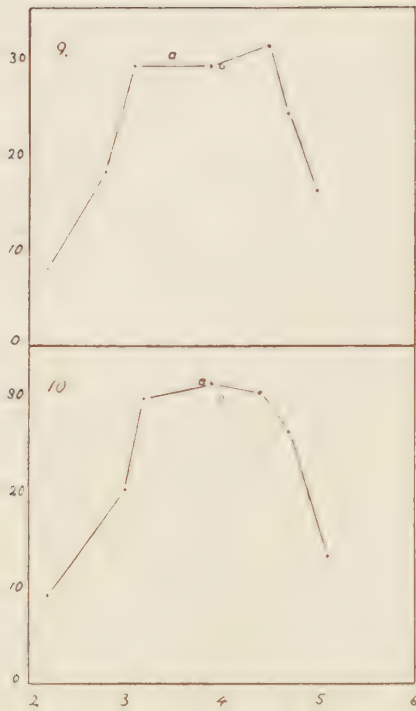


Fig. 10. Urin — pH-miljø 9 & 10.

Abcisse: pH, ordinat: metylenblaatforbrug i ml. 10^{-2} . Kurverne viser reduktionen af tilsat ascorbinsyre.

Tabel 19.

Urin — pH-miljø 9 & 10.

Fortyndings- væske ml			Mb. ml. $10 \div 2$	pH	Bemærkninger
I	II	III			
Lund I			< 2	3,6	
ny modifik.			< 2	3,7	
Lund I			30	3,5	ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml 3 ml + urin 7 ml
ny modifik.			29	4,0	»
	0,5	0,45	8	2,2	»
	0,8	0,1	18	2,8	»
	0,9		29	3,1	»
	0,85	0,05	29	3,9	»
	0,9		31	4,5	»
	0,8		24	4,7	»
	0,8	0,2	16	5,0	»
Lund I			< 2	3,7	
ny modifik.			< 2	3,8	
Lund I			31	3,8	ascorbinsyre 10 mg pr. 100 ml 3 ml + urin 7 ml
ny modifik.			29	4,0	»
	0,5	0,45	9	2,2	»
	0,8	0,1	20	3,0	»
	0,9		29	3,2	»
	0,85	0,05	31	3,9	»
	0,9		30	4,4	»
	0,8		26	4,7	»
	0,8	0,2	13	5,1	»

Diskussion.

De 10 pH-miljøbestemmelser i urin viser, at der ved de benyttede saltblandinger findes et plateau, hvor spontant forekommende reduktion og reduktion efter tilsætning af ascorbinsyre findes maksimalt, og hvor tilsatte mængder genfindes kvantitativt.

Samlet under et er de fundne grænser opført i tabel 20, i sidste kolonne er anført den pH, som er fundet ved den samtidige udførte titrering med *Lund's* I. metode. pH-bestemmelserne ved denne er vist i figurerne ved .

Tabel 20.

pH-grænserne for den maximale metylenblaatreduktion i urin
ved spontan og tilsat ascorbinsyre.
(Sidste kolonne viser pH ved Lund's 1. urinmetode.)

Nr.	Spontan reduktion		Reduktion ved tilsat ascorbinsyre		Lund I
	lavest	højest	lavest	højest	
1			3,3	4,5	3,4
2			3,6	4,8	3,9
3	3,2	4,3			3,3
4			3,3	4,4	3,8
5			3,1	4,4	3,2
6	3,0	4,5			3,4
7			3,1	4,3	3,3
8	3,3	4,5			3,4
9			3,1	4,5	3,8
10			3,2	4,4	3,8

Det ses af fig. 11—15 og af tabel 20, at der ligesom ved serumanalysen findes et plateau, her beliggende mellem pH ca. 3,2 og 4,5, altsaa lidt højere end serumplateauet, men af samme bredde. Plateauet synes at være ganske ens beliggende for udskilt og for tilsat ascorbinsyre. Ligesom ved serum aftager titeren stejlt og tilsyneladende symmetrisk til begge sider.

De samtidig foretagne titreringer med *Lund's I.* metode er alle foregaaet indtør det optimale omraade, men en del af analyserne ligger meget nær den lave ydergrænse. Dette er en følge af, at pH er afhængig af de tilsatte mængder af KH_2PO_4 og NaCl , idet pH nedsættes ved stigende mængder indtil pH 3,0.

For at sikre ganske konstante mængdeforhold af de tilsatte salte uden at ændre metodens gode egenskaber med hensyn til specificitet og kvantitativ titrering, er der paa basis af de foreliggende erfaringer fremstillet en fortyndingsvæske med følgende sammensætning:

KH_2PO_4	g 13
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	» 0,9
NaCl	» 14
aq redest.	ml 50

Denne væske har en pH paa 3,8, den er holdbar i mindst 3 uger. Ved titreringen forskydes pH opad, afhængig af den tilsatte mængde metylenblaatopløsning med omkring 0,1 pH pr. 0,1 ml. Af hensyn til den saltudfældning, som fremkommer ved tilsætning af større mængder alkoholmetylenblaat end ca. 0,4 ml, er man nødt til at fortynde urinen ved høje koncentrationer af ascorbinsyre. Der vil derfor i praksis ikke blive tale om tilsætning af større mængder metylenblaat end indtil 0,35 ml. Herved vil pH i titreringsglasset altid ligge midt i det optimale område, og en fuldstændig kvantitativ titrering er sikret.

Den nye fortyndingsvæske er benyttet i 9. og 10. urin-pH-miljøforsøg; den fundne titer og pH er markeret i figur 10 ved o. Man ser, at titreringen er foregaaet midt i plateauet.

Kapitel 3

SERUMASCORBINSYRENS AARSTIDS- OG ALDERSVARIATION

I *Lund & Lieck's* afhandling meddeles de foreløbige erfaringer med metylenblaatmetoden ved undersøgelse af 4 personer. Der var foretaget bestemmelse af den spontane reduktion i serum og af reduktionen efter en belastningsprøve med indgift af ascorbinsyre pr. os. Hos 2 af de undersøgte fandtes en spontan reduktion paa 0, disse 2 havde i længere tid levet paa en C-vitamin-fattig kost; men efter 10 dages indgift af 50 mg ascorbinsyre fandtes en stigning af den spontane reduktion.

Disse resultater tyder paa, at der findes en sammenhæng mellem kostens indhold af C-vitamin og den med metoden paaviste reduktion.

Paa dette grundlag blev de her foretagne undersøgelser paa-begyndt, og i dette afsnit skal redegøres for de indhentede erfaringer vedrørende den spontane reduktion, der opfattes som et anvendeligt udtryk for ascorbinsyrekoncentrationen. En del af materialet er tidligere offentliggjort.

Det samlede materiale omfatter ascorbinsyreanalyser foretaget paa omtrent 800 personer. Enkelte blodprøver er taget paa sunde individer, de fleste paa ikke udvalgte medicinske og kirurgiske patienter indlagt paa afd. C og afd. A paa Amtssygehuset i Gentofte. Undersøgelserne fandt sted gennem 12½ måned, fra juli 1936 til juli 1937. Der er — paa grund af afdelingernes belægning — undersøgt nogle flere kvinder end mænd. Blodprøverne er taget efter et indifferent morgenmaaltid.

Det foreløbige resultat omfattende samtlige 1387 ascorbinsyreanalyser er meddelt i en forelæsning paa Universitetet i Oslo i 1937 af *Fridericia* (offentliggjort i 1938) i en tabel, der viser

den procentiske fordeling efter de fundne koncentrationer og det maanedlige aritmetriske gennemsnit. Gennem hele aaret ligger en stor del af værdierne omkring 0,3 mg pr. 100 ml ascorbinsyre i serum. I juli—august ligger dog mere end halvdelen højere, til dels meget højere. I løbet af efteraaret og vinteren aftager efterhaanden antallet af de høje værdier, og flere og flere ligger lavere end 0,3 mg pr. 100 ml. Om foraaet (april—maj) ligger flertallet af værdierne under 0,3 mg pr. 100 ml, men i slutningen af juni begynder antallet af høje værdier at tiltage igen.

For nærmere at belyse den paaviste aarstidsvariation er resultatet af 750 bestemmelser af ascorbinsyrekoncentrationen, udført dagen eller 2 dage efter indlæggelsen, fra 750 afebrile medicinske og kirurgiske patienter gjort op. Analyseresultaterne er delt i 11 klasser efter den fundne koncentration i tabel 21. Hver klasse omfatter værdier som differerer mindre end 0,10 mg pr. 100 ml. Der er for hver maaned opstillet den procentiske fordeling i de forskellige klasser. Antallet af undersøgte ses øverst i tabellen, gennemsnitskoncentrationen nederst udtrykt baade ved det aritmetriske gennemsnit og ved det geometriske gennemsnit, der beregnes efter følgende formel:

$$\text{antilog. } \frac{\sum \log. \text{ konc.} *)}{\text{antallet}}$$

Maanederne juli—august viser omtrent samme procentiske fordeling og gennemsnit. I september—oktober aftager de høje værdier, og de lave tiltager. November—april viser nogen forskel i antallet af de høje koncentrationer, mens det store flertal ligger omkring 0,3 mg pr. 100 ml, der er den omtrentlige gennemsnitskoncentration for disse 6 maaneder. De laveste koncentrationer findes i maj og første halvdel af juni, de fleste høje værdier fra denne maaned er fundet i dens sidste halvdel.

*) Dr. phil. G. Rasch har venligst overladt mig denne formel og meddelt, at denne gennemsnitsberegning giver et statistisk korrektere udtryk end den aritmetriske ved beregning af gennemsnit for størrelser med asymmetrisk fordeling. Ved denne beregning opnaas, at »vægten« af enkelte iagttagelser, der ligger langt fra de øvrige, formindskes betydeligt.

Tabel 21.
Den spontane ascorbinsyrekoncentration hos 760 atrofille medicinske og kirurgiske patienter ved
indlæggelsen.

Resultaterne er delt i 11 klasser efter koncentrationen. Hver klasse omfatter analysereturer inden for 0,10 mg pr. 100 ml. For hver måned er opstillet den procentiske fordeling af de under og/eller over 0,10 mg pr. 100 ml.

	1936												1937			
	Jul	Aug.	Sept.	Okt.	Nov.	Dec.	Jan.	Febr.	Marts	April	Maj	Juni				
	45	92	60	98	91	85	40	59	36	48	37	59				
≥ 0,98 mg pr. 100 ml	2	4	1	2		1			2			2				2
0,88-0,97 mg pr. 100 ml	4	3	2				1		1							
0,78-0,87 mg pr. 100 ml	4	2	3	1		1			1	5	2					
0,68-0,77 mg pr. 100 ml	7	8	2	5	1	1			3	3	4					
0,58-0,67 mg pr. 100 ml	16	10	7	6		2					2	3				3
0,48-0,57 mg pr. 100 ml	22	9	16	13	5	11		3	6	6		5				5
0,38-0,47 mg pr. 100 ml	25	41	27	14	14	10	10	9	6	9	5	5				5
0,28-0,37 mg pr. 100 ml	18	20	27	46	55	52	45	38	22	24	6	15				15
0,18-0,27 mg pr. 100 ml		2	15	11	19	15	23	31	53	45	54	38				38
0,08-0,18 mg pr. 100 ml		1		2	6	7	22	14	3	10	27	32				
0,00 mg pr. 100 ml	2												4		5	
Arithmetisk gennemsnit mg pr. 100 ml ..	0,53	0,51	0,42	0,40	0,28	0,31	0,26	0,31	0,34	0,30	0,21	0,25				
Geometrisk gennemsnit mg pr. 100 ml ..	0,50	0,47	0,43	0,35	0,31	0,32	0,26	0,26	0,30	0,24	0,18	0,23				

Kønnet og ernæringstilstanden er uden betydning for ascorbinsyrekoncentrationens niveau. Der synes derimod at findes lavere værdier hos ældre end hos yngre. Dette er belyst i tabel 22 og 23 og i figur 11.

Tabel 22.

Aldersfordeling for 707 nyindlagte voksne patienter.
Den årlige fordeling er optalt i 2-maaneds-klasser.

Alder	Juli-Aug.	Sep.-Okt.	Nov.-Dec.	Jan.-Feb.	Mar.-Apr.	Maj-Juni
15—24	23	25	29	22	17	16
25—34	25	25	27	25	13	18
35—44	16	24	28	15	14	12
45—54	24	34	23	13	12	14
55—64	23	23	32	11	13	19
≥ 65	19	18	21	10	10	14

Tabel 23.

Ascorbinsyrekoncentrationens aldersvariation.

Det geometriske gennemsnit (mg pr. 100 ml) for 10-aars aldersklasser i 2-maaneds-grupper.

Alder	Gengivelse paa fig. 11	Juli-Aug.	Sep.-Okt.	Nov.-Dec.	Jan.-Feb.	Mar.-Apr.	Maj-Juni
15—24	o—o	0,57	0,48	0,35	0,34	0,36	0,26
25—34		0,55	0,44	0,33	0,27	0,28	0,26
35—44	o----o	0,43	0,37	0,30	0,26	0,28	0,23
45—54		0,44	0,36	0,32	0,24	0,29	0,22
55—64		0,45	0,36	0,33	0,22	0,22	0,15
≥ 65	o-...-o	0,39	0,29	0,28	0,23	0,27	0,13

Opstillingen omfatter 707 nyindlagte patienter over 15 aar, idet de 43 undersøgte i alderen 6—14 er udskudt her paa grund af det ringe antal. Materialet er delt i 10-aars klasser, aarsvariationen vises ved 2-maaneds-klasser. I tabel 22 ses antallet af udførte analyser, i tabel 23 de hertil svarende geometriske gennemsnit, hvoraf 3 er gengivet i figur 12.

For hver aldersklasse er der en betydelig variation i de enkelte analyseresultaters beliggenhed; som følge heraf er de for de yngste og ældste klasser — som for de mellemliggende — fundne 2-maaneds-forskelle i gennemsnitskoncentrationen ikke

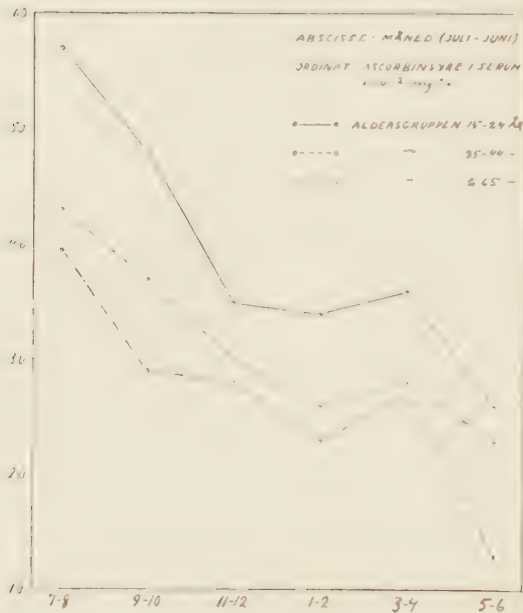


Fig. 11.

Ascorbinsyrekoncentrationens alders- og aarstidsvariation.

statistisk sikre. Det samme er ligeledes tilfældet med den paaviste aarstidsvariation for hele materialet. Trods dette synes det alligevel berettiget at antage, at de fundne gennemsnitsvariationer er udtryk for en reel forskel, da den forskel, man kan finde hos samme individ paa varieret C-vitaminindgift, er reel og tydeligt afhængig af de tilførte mængder.

Ved de forskellige afebrile medicinske og de fleste kirurgiske sygdomme er der ikke fundet forskelle i ascorbinsyrekoncentrationens niveau. Derimod viser febrile sygdomme og ogsaa afebrile pyogene lidelser (salpingitis, pyarthron, osteomyelitis) lavere værdier end de øvrige sygdomsgrupper. I alt er der af de nævnte 2 sygdomsgrupper undersøgt 75 i løbet af året. Den geometriske gennemsnitskoncentration pr. måned af disse og af de 750 afebrile ses paa figur 12. Toppen i november er sandsynligvis »tilfældig«, da her kun er undersøgt 3 febrile, mens antallet pr. måned ellers varierer mellem 4 og 17.

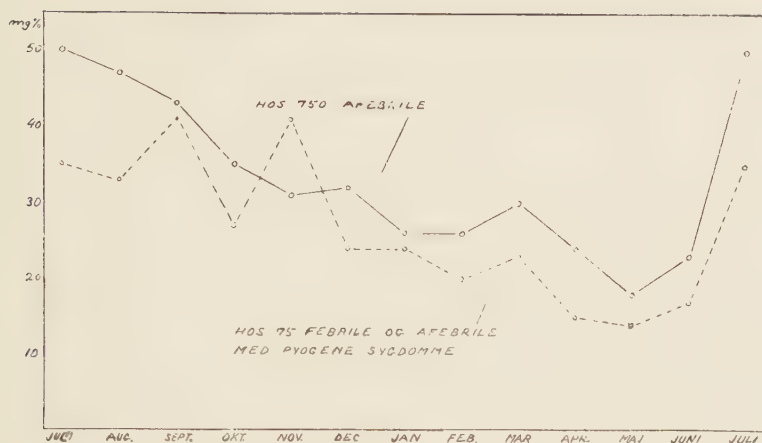


Fig. 12. Serumascorbinsyrens aarstidsvariation.

Det månedlige geometriske gennemsnit (mg pr. 100 ml. $10 \div 2$) hos nyindlagte patienter.

Diskussion.

For at bedømme den formentlige sammenhæng mellem den paaviste ascorbinsyrekoncentration og kostens indhold af C-vitamin er patienterne udspurgt omhyggeligt om kostanamnesen og herefter delt i 3 grupper, der afviger stærkt fra hinanden med hensyn til kostens indhold af C-vitamin:

- 1) C-rigelig: Jordbær, hindbær, rigelige mængder af grøntsager, spinat, pærer og æbler og rigelige mængder af nye kartofler daglig.
- 2) C-moderat: Frugt og grøntsager i moderate mængder, kartofler omtrent daglig.
- 3) C-fattig: Ingen grøntsager eller frugt, højst kartofler i moderate mængder.

Disse kostoplysninger er indhentet, enten inden analysens resultat har foreligget, eller uden at det har været præsent. Det er derved sikret, at vurderingen er uden det suggestive præg, som kunde tænkes, naar udspørgeren kender vedkommendes serum-ascorbinsyrekoncentration. Mange kan kun vanskeligt give oplysninger om, hvad de spiser, men man mener dog at have faaet et ret paalideligt skøn over kostens C-vitaminindhold

i de fleste tilfælde. I nojagtighed staar denne fremgangsmaade naturligvis langt under den, der opnaas ved anvendelse af det af V. Lunn angivne spørgeskema. Lunn's skema var ikke offentliggjort, da disse undersøgelser blev foretaget; den tid, der kræves til udfyldelsen af skemaet, vilde iøvrigt have umuliggjort anvendelsen i et omfang som dette.

En sammenligning mellem den spontane ascorbinsyrekoncentration i serum og kostens skønsmæssige indhold af C-vitamin fremgaar af tabel 24, hvor de fundne koncentrationer er samlet i klassespillerum paa 0,20 mg pr. 100 ml. Opstillingen omfatter 187 analyser udført paa 156 forskellige afebrile personer i 2 sommermaaneder, hvor forskellen mellem de 3 nævnte grupper er størst.

Tabel 24.

Fordeling af de spontane ascorbinsyrekoncentrationer efter kostens skønsmæssige indhold af C-vitamin.

Serumascorbinsyre mg pr. 100 ml	< 0,25	0,30-0,45	0,50-0,65	0,70-0,85	0,90-1,05	> 1,10
C-rigelig		19	19	10	6	3
C-moderat	1	69	24	3		
C-fattig	8	26	3			

Der ses en ret tydelig korrelation mellem kostens skønsmæssige indhold af C-vitamin og de paaviste ascorbinsyrekoncentrationer. Det samme gør sig gældende for hele aarsmaterialet; men paa grund af de betydelige mindre mængder C-vitamin, de fleste indtager i vinter- og foraarsmaanederne, er korrelationen knap saa tydelig for resten af aaret som i sommermaanederne. I vintermaanederne bevirker de stærkt svingende C-vitaminmængder i kartofler, grøntsager og frugt, afhængig af sort, lagring, tilberedningsmaade o. s. v., ogsaa, at et skøn over C-indholdet bliver meget usikrere end om sommeren. Dette fremgaar bl. a. af Lieck's undersøgelser over C-vitaminindholdet i grøntsager.

I talrige tilfælde er der ved gentagne analyser hos samme person fundet næsten konstant ascorbinsyrekoncentration gennem længere tid. Eksempelvis fandtes hos en 72-aarig mand med

nephritis og hypertension i løbet af 23 dage ved 17 analyser koncentrationer mellem 0,15 og 0,25 mg pr. 100 ml, idet disse værdier fandtes 3 gange hver, de øvrige 11 gange fandtes 0,20. Hans kost bestod i hele tidsrummet af skaanekost uden frugt.

Literaturen indeholder talrige meddelelser om særlig lave ascorbinsyrekoncentrationer ved visse sygdomme. At nogle afebrile organsygdomme ikke bevirker forskel i gennemsnitskoncentrationen i dette materiale, fremgaar af en sammenlignende undersøgelse af 107 nyindlagte patienter (fra november til april) lidende af henholdsvis hjerte-karsygdomme, led- og muskelsygdomme og mave-tarmsygdomme. Aldersfordelingen er omtrent ens i de 3 grupper. Der findes for disse 3 grupper et gennemsnit paa henholdsvis 0,33, 0,33 og 0,31 mg pr. 100 ml.

At særlige forhold gør sig gældende ved kirurgisk tuberkulose og lungetuberkulose er bl. a. vist af *Dagulf* og af *Groth-Petersen*. Deres resultater diskuteres nærmere paa side 112.

Kostens betydning for ascorbinsyrekoncentrationen i serum.

De samlede erfaringer om C-vitaminindgiftens størrelse ved forskellige serumascorbinsyrekoncentrationer er følgende:

I sommermaanederne er der enkelte gange fundet 0,50 mg pr. 100 ml efter en kost, der i flere uger har haft nye kartofler som væsentligste C-vitaminkilde uden at indeholde grøntsager eller frugt. I efteraarsmaanederne september—november kan samme koncentration naas ved den samme kost, naar den suppleres med $\frac{1}{2}$ —1 tomat daglig eller ret store mængder frugt, mindst 2—3 æbler eller pærer daglig. I vinter- og forarsmaanederne kan 0,50 mg pr. 100 ml kun opnaas ved blandet kost med et tilskud af mindst 3 appelsiner eller citroner ugenlig. I juni kommer der igen friske grøntsager og nye kartofler i handelen. Først efter 2—3 ugers brug kommer den omtalte eller højere koncentration i serum. Hvis jordbær spises samtidig i store mængder, kan stigningen indtræde paa kortere tid.

Hos talrige patienter findes i vintermaanederne 0,25—0,30 mg pr. 100 ml ved indlæggelsen. Mange af disse har ikke været paa diæt og har — efter indlæggelsen — foruden hospitalskosten faaet frugt i betydelige mængder. Æbler eller pærer dag-

lig har ikke hævet koncentrationen over 0,35 mg pr. 100 ml, mens appelsiner daglig eller omtrent daglig i talrige tilfælde har bevirket stigning til 0,45 mg pr. 100 ml eller højere i løbet af ca. 2 uger. Samme koncentration er i nogle tilfælde fundet hos nyindlagte patienter, der tidligere har spist mange appelsiner, men som i 7—12 dage før indlæggelsen har levet paa streng diæt (feberkost uden mælk).

Den fra juli—april hyppigst fundne koncentration omkring 0,30 mg pr. 100 ml stammer fra personer paa almindelig blandet kost ofte uden større mængder af frugt eller grøntsager. I maj og juni er der paa samme kost fundet lavere værdier. Grunden til dette er formentlig, at appelsiner ikke spises i større udstrækning, og at den vigtigste C-vitaminkilde, kartotterne, har tabt den største del af deres C-indhold under lagringen.

De lave tal hos ældre kan formentlig forklares alene ved en ringere konsum af frugt og grøntsager end hos yngre.

Konkulsionen af disse undersøgelser bliver da, at den med metylenblaat fundne reduktion i serum viser kvantitative variationer, som i grove træk er afhængig af den C-vitaminmængde, som er tilført gennem føden.

En lignende undersøgelse over ascorbinsyrekoncentrationens aarstidsvariation er meddelt i 1938 af *v. Eekelen*, der bestemmer mængden i fuldblod med egen metode. Hans materiale er af samme størrelsesorden som det her fremlagte. Det omfatter 735 analyser gennem aarets 12 maaneder med mellem 19 og 121 analyser pr. maaned. Aarstidsvariationen er den samme som her med et maximum i juli og et minimum i maj. Bortset fra en forbigaaende stigning i Januar maaned, den tilskrives juleappelsinerne, har kurven et ret jævnt fald fra juli til maj. De absolute tal er dobbelt saa store som de her meddelte, dette skyldes antagelig dels metoden og dels en større C-vitaminkonsum hos hollænderne.

Der findes endvidere 2 meddelelser om urinudskillelsens aarstidsvariation: *Müller* (Schweiz) finder et maximum i juni—august og i aarets øvrige maaneder ganske lave tal, der formentlig er udtryk for uspecifik reduktion. *Guggenheim* (Palæstina) finder et maximum i januar—maj og lave tal for juni—

oktober, disse sidste er ligeledes antagelig udtryk for uspecifik reduktion. Det paaviste maximum svarer til appelsinsæsonen i Palæstina.

Yderligere foreligger nu ogsaa en aarskurve over kvindemælks ascorbinsyreindhold (*Bræstrup*) og en kartoffelaarskurve (*Lieck*). Begge har maximum og forløb svarende til serum-ascorbinsyrens aarstidsvariation.

Kapitel 4

ANALYSEMETODER TIL BESTEMMELSE AF ASCORBINSYRE I BLOD

De senere aars talrige studier over C-vitaminsstofskiftet hos mennesket er i hovedsagen foretaget ved undersøgelser over ascorbinsyrekoncentrationen i blod og urin under forskellige forsøgsbetingelser. Der er hertil anvendt forskellige analysemetoder, hvis fortrin og mangler har været stærkt diskuteret.

Som grundlag for en vurdering af de fundne resultater og de deraf dragne konklusioner skal her gives en oversigt over metoden ved de analysemetoder, der har vundet størst udbredelse.

At C-vitaminholdige stoffer kan reducere forskellige metalsalte, farvestoffer og jod, har været kendt i en længere aarrække. Allerede nogle aar før opklaringen af C-vitaminets kemiske sammensætning blev farvestoffet 2,6-diklortenolindofenol benyttet af *Zilva* og *Tillmans* til undersøgelser over C-vitaminindholdet i forskellige medier. Diklortenolindofenol har siden været den mest anvendte indikator til C-vitaminanalyser ogsaa i blod.

I 1934 iagttog *v. Euler & medarbejdere*, at metylenblaat i et særligt miljø blev affarvet, d. v. s. reduceret ved belysning. Omtrent samtidig meddelte *Martini & Bonsignore*, at ascorbinsyre reducerer metylenblaat under intensiv belysning, og at der bestaar et kvantitativt forhold mellem mængden af ascorbinsyre og det reducerede metylenblaat. Paa grundlag af denne iagttagelse udarbejdede *Martini & Bonsignore* en metode til ascorbinsyrebestemmelse i organekstrakter. Denne metode er i 1936 af *Gabbe* tillempet til blodanalyse; men synes iøvrigt ikke at være benyttet i særlig stor udstrækning senere, den anvendes til stadighed vistnok kun af Rostock-skolen (*Wachholder & medarbejdere*).

I nærværende oversigt omtales de analysemetoder til ascorbinsyretiltrering i blod, der har vundet større udbredelse. De enkelte metoders udførelse skal omtales kort:

- 1) *Emmerie & v. Eekelen*: Til 10 ml oxalatblod tilsættes 10 ml 10 % trikloreddikesyre, blandes; tilsætning af 5 ml 20 % mercurieacetat, blandes. Henstand i faa minutter. Derefter tilsætning af ca. 0,5 g CaCO_3 til svag violet farve paa kongo-papir. Centrifugering; væsken dekanteres fra og gennem-bobles med svovlbrinte. Herefter henstand tilproppet til næste dag. Svovlbrinten udluftes ved gennembobling med kvælstof i 10—30 minutter (kontrol med blyacetatpapir). Der titreres paa 5 ml med diklorfenolindofenol.
- 2) *Farmer & Abt*. Mikrometode: 0,3—0,4 ml blod udtømmes i et lille glas indeholdende kaliumoxalat, blandes og centrifugeres. Til 0,1 ml plasma tilsættes 0,1 ml vand og 0,2 ml frisk 5 % metafosforsyre, omhyggelig blanding. Det koagulerede protein centrifugeres ned. Der titreres paa 0,2 ml med diklorfenolindofenol.
- 3) *Taylor, Chase & Faulkner*: Til 2 ml serum eller plasma tilsættes 14 ml vand, 2 ml 5 % natriumwolframat og 2 ml $\frac{1}{2}$ n svovlsyre; centrifugering. Væsken dekanteres, bundfaldet vaskes, og skyllevandet tilsættes til plasmafiltratet. Der titreres med diklorfenolindofenol.
- 4) *Lund & Lieck's* metode, se side 13.
- 5) *Ingalls*: 2 ml oxalatplasma tilsat lidt KCN tilsættes 4 ml vand og deproteiniseres med 4 ml 5 % metafosforsyre. Omhyggelig blanding og filtrering. Titrering paa filtrater med diklorfenolindofenol.
Pijoan & Klempner benytter samme metode.
- 6) *Herlitz'* modifikation af Lund & Lieck's metode: Belysning med 300 watt i stedet for med 100 watt. Titreringen afsluttes ved en farvestyrke som et kontrolglas', hvortil er sat 0,2 ml metylenblaat. Metylenblaatoopløsningen standardiseres overfor ascorbinsyre i en syre-stødpude-blanding. Metoden er iøvrigt uændret.

Tabel 25.

Udbredte metoder til ascorbinsyreanalyser i blod.

Aar	Forfatter	Undersøgelses- metode	Resultat mg pr. 100 ml	Bemærkninger
1934	Emmerie & v. Eekelen.	fuldblod + oxalat. diklorfenol- indofenol.	0,23—2,44	trikloreddikesyre + mercuriacetat + svovlbrinte (totalascorbinsyre).
1936	Farmer & Abt.	oxalatplasma. diklorfenol- indofenol.	0,69—2,5	metafosforsyre. mikrometode.
»	Taylor, Chase & Faulkner.	serum eller plasma. diklorfenol- indofenol.	0,85—2,24	Na-wolframat (senere ændret, se Ingalls).
»	Lund & Lieck.	serum metylenblaat.	0—0,40	trikloreddikesyre.
1937	Ingalls.	oxalatplasma diklorfenol- indofenol.	0—1,1	metafosforsyre + KCN. (børn).
»	Pijoan & Kemperer.	do.	0,65—2,0	metafosforsyre + KCN. (voksne).
1938	Herlitz' mo- dific. Lund & Lieck.	serum metylenblaat.	0—2,0	ændret standardi- seringsmetode og øget belysning. (børn).

Af denne oversigt, hvis hovedpunkter er samlet i tabel 25, ses det, at nogle forfattere benytter fuldblod, andre plasma eller serum. Som indikator anvendes diklorfenolindofenol eller metylenblaat. Som fældningsvæske anvendes mest trikloreddikesyre eller metafosforsyre. Titreringerne foregaar alle i surt miljø ved ret fixerede pH-værdier. Med *Emmerie & v. Eekelen's* metode paavises mængden af total ascorbinsyre (reduceret ascorbinsyre + dehydroascorbinsyre), mens der med de øvrige metoder kun bestemmes den reducerede ascorbinsyre.

Emmerie & v. Eckelen angiver, at ascorbinsyre ikke er stabil i trikloreddikesyre tilsat svovlbrinte, men stabil, hvis forstyrrende reducerende stoffer er fjernet ved fældning med mercuriacetat. De forstyrrende reducerende stoffer skal især være glutatation, cystein og ergotionin. Ved metoden bestemmes total-ascorbinsyren. E. & E. mener senere at vise, at ascorbinsyre-koncentrationen er ens i blodlegemer og plasma. De genfinder tilsat ascorbinsyre praktisk talt kvantitativt. Dette er senere blevet bekræftet af andre.

Svovlbrintefældningen er kritiseret stærkt (bl. a. af *Tschopp, Kellie & Zilva* og *Hinsberg*): De anfører, at behandlingen reducerer uspecifikke substanser, som ogsaa skal reducere diklorfenolindofenol; herved faar man for høje titre. Ogsaa mercuriacetattfældningen er kritiseret (bl. a. af *Gabbe, Tschopp* og *Farmer & Abt*): De angiver, at fældningen ikke fjerner alle med-reducerende stoffer, og samtidig skal den bevirke en irreversibel oxydation eller adsorption af en del af den tilstedeværende ascorbinsyre. Dette sidste synes bekræftet af *Dagulf*, som ikke finder E. & E.'s metode anvendelig til klinisk brug, idet den gav resultater, der var ganske uden korrelation til de ved *Farmer & Abt* og *Lund & Lieck's* metoder opnaaede analyse-resultater.

Farmer & Abt's mikrometode er antagelig den mest anvendte. Efter tidligere at have angivet en metode, hvori natriumwolframat anvendtes som fældningsmiddel, gik de -- efter at brugen af metafosforsyre var blevet stærkt anbefalet, bl. a. af *Fujita & Iwatake* -- over til at benytte dette fældningsmiddel. De anfører, at metoden baade som makro- og mikrometode er kvantitativ for tilsatte mængder ascorbinsyre, og de mener ogsaa, at den er specifik. De tilføjer senere (i 1938), at ascorbinsyren er holdbar i 24 timer ved 4° i deproteiniseret plasma (undersøgt i 7 prøver), naar blodet deproteiniseres straks efter blodtagningen. Samtidig fraraader de energisk den af bl. a. *Ingalls, Pijoan & medarbejdere, Bessie & medarbejdere* benyttede fremgangsmaade at tilsætte KCN til plasma. *Farmer & Abt* mener, at cyanidet virker paa to maader modsat virkende: Det affarver diklorfenolindofenol og giver for høj titer, men samtidig de-

struerer det ascorbinsyre, især ved lang tids henstand. Dette er blevet bekræftet af *Cushman & Butler* og af *Sendroy & Miller*.

I større europæiske undersøgelsesrækker er *Farmer & Abt's* metode anvendt af *Westergaard*, *Dagulf* og *Bræstrup*; alle 3 har undladt den omtalte »preservation« med cyanid og har kun foretaget uvæsentlige ændringer i metodiken.

Da brugen af natriumwolframat som fældningsmiddel kun synes at være lidt anvendt de sidste aar (af *Rinehardt & medarbejdere*), forbigaaes nærmere omtale her.

Da *Emmerie & v. Eekelen's* metode bestemmer koncentrationen i fuldblod, medens de øvrige omtalte metoder bestemmer koncentrationen i plasma eller i serum, skal den foreliggende litteratur om ascorbinsyrekoncentration i blodets formelelementer refereres:

v. Eekelen & medarbejdere (1936) finder samme koncentration i plasma og røde blodlegemer. *Stephens & Hawley* finder høje koncentrationer i de hvide blodlegemer ved leukæmi og i 10 af 19 prøver lidt lavere koncentration i de røde blodlegemer end i plasma. Plasma og fuldblodskoncentrationen er ofte omtrent ens. *Pi Joan & Eddy* finder derimod langt lavere mængder i røde blodlegemer end i plasma. Endelig finder *Heinemann*, at ascorbinsyrekoncentrationen er lidt større i blodlegemer end i serum undtagen under belastningsforsøg, og at ascorbinsyre kun optages langsomt af de røde blodlegemer. Dette sidste er i en vis overensstemmelse med *Borsook & medarbejdere's* fund, at røde blodlegemer fra 6 forskellige dyrearter og mennesket er praktisk talt uigennemtrængelige for ascorbinsyre.

Disse resultater er altsaa meget modstridende og antagelig i høj grad afhængig af de anvendte metoder, bl. a. af hvorledes de røde blodlegemer skilles fra plasma, af fældningsmidlet og af svovlbrintebehandlingen.

Sammenlignende undersøgelser med forskellige metoder.

Sammenlignende undersøgelser mellem de forskellige metoder til ascorbinsyreanalysen i blod er først udført af *Emmerie & v. Eekelen* (1937). De meddele resultatet af 10 prøver og finder god overensstemmelse mellem egen og *Lund & Lieck's*

metode. *Neuweiler* (1938) foretager ligeledes 10 dobbeltanalyser med de samme metoder, kun i 3 findes identisk resultat eller forskel under 0,1 mg pr. 100 ml, mens der i de øvrige er betydelige afvigelser.

Sammenligning mellem *Farmer & Abt's* og *Lund & Lieck's* metoder er bl. a. foretaget af *Bræstrup, Dagulf, Ottsen* og *Kirk & Warburg*. *Bræstrup* (Disp. s. 45) finder i 5 blodprøver ens tal for de lave værdier, men indtil 40 % lavere værdier med *Lund & Lieck's* metode ved højere koncentrationer. *Dagulf* (Disp. s. 34 og 37) finder baade ved 19 genfindelsesforsøg med tilsat ascorbinsyre og ved 23 spontantitreringer, at »bei niedrigen Serumkonzentrationen (im allgemeinen bis zu 0,20 mg %) beide Methoden quantitativ ziemlich übereinstimmenden Werte geben, dass aber bei höheren Konzentrationen die Mb-methode nach *Lund & Lieck* quantitativ nicht masshalten ist«.

I modsætning til *Bræstrup* og *Dagulf* finder *Kirk & Warburg* ved sammenlignende undersøgelser med *Farmer & Abt's* og *Lund & Lieck's* metode i 47 sera, at den spontane ascorbinsyrekoncentration bestemt efter *Lund & Lieck* ligger betydelig lavere end bestemt efter *Farmer & Abt*, ogsaa ved lave koncentrationer. De viser, at ved anvendelse af en omregningsfaktor, hvorved analyseresultatet bestemt efter *Lund & Lieck* multipliceres med 2,1, bliver der en brugelig overensstemmelse mellem de to metoder. I enkelte tilfælde er afvigelsen dog meget betydelig.

En anden størrelse for omregningsfaktoren end *Kirk & Warburg's* giver *Ottsen's* materiale, som elskværdigt er stillet til min raadighed. Det omfatter 70 analyser fra 70 sygeplejersker.

Tabel 26.

70 ascorbinsyretitreringer med *Lund & Lieck* og *Farmer & Abt's* metoder (*Ottsen*).

Ascorbinsyrekoncentration i mg pr. 100 ml. $10 \div^*$			Ascorbinsyrekoncentration i mg pr. 100 ml. $10 \div^2$		
Mb.	Mb. . 4	F. & A.	Mb.	Mb. . 4	F. & A.
0	0	4	0	0	12
0	0	8	0	0	16
0	0	10	0	0	20
0	0	10	0	0	20
0	0	12	0	0	28

Ascorbinsyrekoncentration i mg pr. 100 ml. $10 \div 2$			Ascorbinsyrekoncentration i mg pr. 100 ml. $10 \div 2$		
Mb.	Mb. 4	F. & A.	Mb.	Mb. 4	F. & A.
2	8	16	13	52	28
2	8	20	13	52	28
2	8	30	13	52	56
3	12	36	13	52	88
4	16	10	14	56	44
4	16	16	15	60	24
4	16	18	15	60	52
4	16	28	15	60	64
4	16	36	16	64	40
4	16	48	17	68	56
6	24	40	17	68	88
6	24	72	17	68	88
7	28	16	19	76	124
7	28	20	20	80	32
8	32	24	20	80	68
8	32	28	21	84	100
9	36	16	23	92	88
9	36	16	24	96	92
9	36	20	25	100	92
9	36	24	26	104	164
9	36	28	28	112	120
9	36	32	31	124	112
9	36	36	34	136	112
9	36	44			
10	40	20			
10	40	28	$\leq$ MB	$\leq$ F. & A.	
10	40	32	741	3046	
11	44	20	gmsn.	gmsn.	
11	44	36	10,6	43,5	
11	44	36	Omregningsfaktor		
11	44	36	4,11		
11	44	40	$\leq$ MB	tilsv.	
11	44	44	> 12	$\leq$ F. & A.	
11	44	52	487	1852	
11	44	72	gmsn.	gmsn.	
12	48	48	18,7	71,3	
13	52	20	Omregningsfaktor		
13	52	24	3,82		

De fundne ascorbinsyrekoncentrationer er opstillet i tabel 26 efter samme princip som anvendt af Kirk & Warburg. Faktoren findes her til 4,11 for samtlige analyser; hvis den beregnes

alene efter de analyser, hvor koncentrationen bestemt ved metylenblaatreaktionen er 0,12 mg pr. 100 ml eller derover, bliver den 3,82. I figur 13 er alle dobbeltbestemmelserne angivet i et koordinatsystem med *Farmer & Abt*-tallene i abscissen og *Lund & Lieck*-tallene i ordinaten. Som omregningsfaktor er i figuren brugt 4,0. Der er i dette materiale større spredning end i *Kirk & Warburg's*.

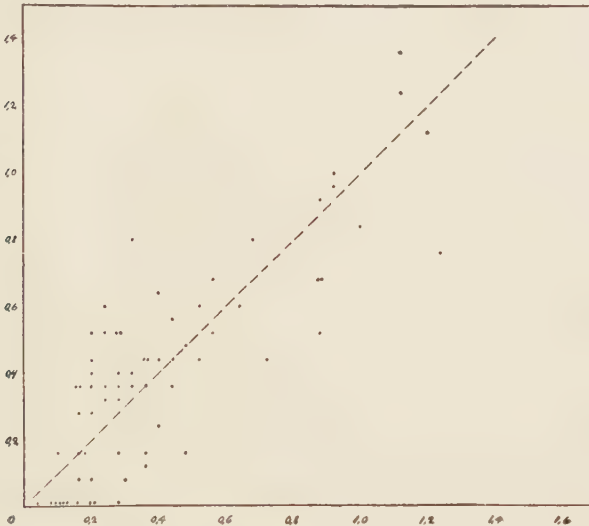


Fig. 13. 70 ascorbinsyretitreringer med *Lund & Lieck* og *Farmer & Abt's* metoder (Ottson).

Abscisse: F. & A. koncentrationen i mg pr. 100 ml. Ordinaten: L. & L. koncentrationen i mg pr. 100 ml. 4.

Angaaende *Farmer & Abt's* metode maa det betragtes som fastslaaet, at den er kvantitativ for tilsat ascorbinsyre i plasma, men der er ikke ført sikkert bevis for, at den er specifik. Dette betvivles bl. a. af Utrecht-skolen, som af denne grund har anbefalet fældningen med mercuriacetat. Specifik titrering kunde ventes, hvis ascorbinsyren kunde fjernes fra mediet ved hjælp af en specifik oxydase. Der er udarbejdet en metode til titrering i kaal af *Tauber, Kleiner & Mishkind*, og til undersøgelse i fæces af *Farmer & Chin*; ved disse metoder titreres

med diklorfenolindofenol før og efter fjernelse af ascorbinsyren. Til blodanalyser — der da ogsaa vilde kræve store blodmængder — findes ikke offentliggjort nogen metode med anvendelse af denne fremgangsmaade.

Titration før og efter destruktion af ascorbinsyre ved hjælp af en oxydase er forsøgt af *Neuweiler* og af *Wachholder & Hamel* ved *urinalyser*. Selv om de til en vis grad mener at naa til korrekte tal ved denne fremgangsmaade end ved titration med henholdsvis diklorfenolindofenol og metylenblaat alene, finder de dog ikke, at metoden er særlig anbefalelsesværdig, især fordi de benyttede oxydaser ikke er specifikke.

Paa grundlag af det her refererede synes det rimeligt at konkludere, at det kun meget groft er muligt at sammenligne de ved *Farmer & Abt's* mikrometode og de ved *Lund & Lieck's* metode opnaaede resultater. Vurderingen af de forskellige forfatteres resultater er derfor temmelig usikker. Det maa dog tilføjes, at de forandringer i blodkoncentrationen, som findes med de to metoder ved større ændringer i C-vitaminindgiften, f. ex. ved belastningsprover, altid synes at være af samme størrelsesorden og i samme tidsmæssige relation; eksempelvis findes den maximale koncentration i blodet ved orale belastningsprover med store ascorbinsyredoser ved begge metoder praktisk talt samme tid: 2–3 timer efter indgiften af belastningsdosis.

Kapitel 5

ASCORBINSYREBELASTNINGER MED URIN- OG BLODANALYSER

Urinanalyser.

Tillmans & medarbejdere's sammenlignende undersøgelser over C-vitaminkoncentrationen i forskellige vegetabiliske næringsmidler ved biologisk bestemmelse paa marsvin og ved kemisk bestemmelse med diklorfenolindofenol og den samtidige paavisning af, at C-vitaminet er identisk med hexuronsyren (*Szent-Györgyi*), var forudsætningerne for de følgende aars talrige kemiske undersøgelser over C-vitaminmængden i vegetabiliske og animalske stoffer.

I modsætning til *Tillmans & medarbejdere*, som udførte deres titreringer i neutralt medium, anbefalede *Birch, Harris & Ray* (1933) — ligeledes efter sammenlignende biologiske og kemiske undersøgelser — at titrere med diklorfenolindofenol i surt miljø for derved at undgaa medreaktion af nogle uspecifikke stoffer som glutation, fenol- og ferroforbindelser. Kun cystein mener de er muligvis medreagerende ved den nævnte fremgangsmaade. Samme aar meddeler *Harris, Ray & Ward*, at C-vitamin udskilles i urinen, og at der kommer forøget udskillelse efter rigelig C-vitaminindgift; men de præciserer dog, at døgnudskillelsen er godt 50 % større end indgiften, og at metoden bl. a. af denne grund næppe er helt specifik. Samtidig meddeler *v. Eekelen & medarbejdere*, at de kan titrere C-vitamin i forskellige legemsvæsker; men disse undersøgere mener, at diklorfenolindofenol selv i sur væske reduceres af cystein og ergotionin. For at undgaa disse stoffer fælder de med mercuri-acetat. Herved angiver de, at ascorbinsyren delvis oxyderes til den reversible — og biologisk aktive — dehydroascorbin-

syre, som kan bestemmes med i den kvantitative analyse efter at være tilbagereduceret med svovlbrinte, der samtidig udfælder overskudet af mercuriacetat.

I 1934 meddeler *Johnson & Zilva* deres erfaringer over udskillelsen af ascorbinsyre i urinen. De kommer bl. a. til følgende slutninger, som er blevet bekræftet ved talrige senere undersøgelser: 1) Den udskilte mængde er afhængig af den mængde, der er oplagret i organismen og af kostens indhold af C-vitamin. 2) Den procentiske udskillelse er mindst efter indgift af store doser. 3) Diuresens størrelse har ingen indflydelse paa udskillelsens størrelse. 4) Der udskilles ingen dehydroascorbinsyre i urinen. 5) Indgift af dehydroascorbinsyre udskilles som ascorbinsyre.

De indfører endvidere begrebet »saturation«, mætning; herved forstaar de den tilstand, hvor der paa en konstant (stor) indgift finder en konstant udskillelse sted. At det her udskilte virkelig er C-vitamin, bekræftes ved marsvineforsøg. *Johnson & Zilva* mener, at den spontane døgnudskillelse ikke kan tages som et udtryk for organismens mætningstilstand med hensyn til C-vitamin. Dette paastaas derimod af *Harris & Ray* (1935), som dog samtidig anbefaler en belastningsprøve, hvor udskillelsens størrelse ligeledes skal være brugelig til paavisning af en eventuel hypovitaminose.

De her refererede undersøgelser vakte stor opsigt, og siden er der fremkommet overordentlig mange afhandlinger om disse emner.

Af særlig interesse er et klinisk arbejde af *Schultzer* (1936). Han bestemte døgnudskillelsen af ascorbinsyre i urinen paa 3 scorbutpatienter paa scorbutogen kost og samtidig paa 6 ischiaspatienter paa hospitalsfuldkost. Resultatet var, at udskillelsen var omtrent ens i de to grupper, den var kun lidt lavere hos scorbutpatienterne; men hos en af disse var der en højere udskillelse end hos 4 af ischiaspatienterne. Disse resultater tyder paa, at den spontane urinudskillelse bestemt ved titrering med diklorfenolindofenol ikke skyldes ascorbinsyre, men tilstedeværelsen af andre stoffer.

De fleste forskere, der har undersøgt udskillelsen af ascorbinsyre i urin, har benyttet belastningsprøver med indgift af

ascorbinsyre i forskellige mængder. *Abbasy, Harris & medarbejdere* (1935) anvender saaledes til voksne ca. 10 mg pr. kg legemsvægt, mens *v. Eekelen, Jezler & Kapp* og andre anvender en mindre dosis paa ca. 5 mg pr. kg. Ogsaa kriteriet for mætning varierer, idet mange forfattere kræver, at udskillelsen i urinen ikke blot skal stige, men skal være en større eller mindre brøkdel af indgiften.

I de sidste aar er der en stigende enighed om, at den reduktion, der findes normalt i urinen, d. v. s. paa en kost uden excessive mængder af frugt, ikke hidrører fra C-vitamin, men fra forskellige andre stoffer, især fra de tidligere nævnte: glutathion, cystein, cystin, pyrogallol, sulfater o. a. Dette er bekræftet ved *Wieters'* undersøgelser; han fandt, at urin med ret høj spontan diklorfenolindofenol-titer var ganske uden antiscorbutisk virkning paa marsvin. At en høj diklorfenolindofenol-titer efter belastninger indeholder C-vitamin, er vist ved marsvineforsøg (*Zilva*), og ascorbinsyre er isoleret krystallinsk (*Wieters*, 1937).

Paa basis af *Schultzer's* og *Wieters'* undersøgelser konkluderede *Lund* i 1937, at urinundersøgelser med diklorfenolindofenol er uden større værdi, og han udarbejdede derfor sin metylenblaatmetode. Efter de med denne (første) metode opnaaede resultater kom *Lund* til den slutning, at ascorbinsyre ikke er nogen normal, i hvert fald ikke nogen sædvanlig urinbestand. Det samme resultat kom *Widenbauer* til. Disse synspunkter har senere faaet tilslutning fra talrige sider.

Andre af de ved urintitrering fundne resultater omtales nærmere i Kapitel 8.

Egne undersøgelser.

De ovenfor refererede undersøgelser viser problemstillingen, som den forelaa, da de side 54 nævnte forsøg af *Lund & Lieck* blev videreført af mig. Forholdene ved belastning med ascorbinsyre er undersøgt paa medicinske patienter. Der er foretaget bestemmelse af den spontane ascorbinsyrekoncentration og yderligere analyser 1—1½—2—3 eller 4 timer senere.

Alle patienterne er belastet fastende, idet det havde vist sig ved gentagne belastninger paa de samme personer med over

1 uges mellemrum udtort fastende og efter et let morgenmaaltid, at stigningen havde tendens til at komme senere og naa et lavere maximum, hvis belastnings-dosis blev givet kort tid efter et maaltid.

En sammenstilling af disse undersøgelser fremgaar af tabel 27.

Tabel 27.
25 perorale belastningsprøver.

Nr.	Køn	Diagnose	Kostoplysning	Ascorbinsyrekoncentration i mg pr. 100 ml				
				fastende	efter Belastning			
				1 time	1½ time	2 timer	3 timer	4 timer
1	♀	neurasthenia, diath. hæg.	C rigelig	0,70			1,75	
2	♂	ulcus ventriculi	ulcuskur 4 uger. 1 citron dgl. i 4 uger	0,30	0,45	0,60	0,60	0,45
3	♂	ulcus duodeni	ulcuskur 4 uger	0,30	0,30		0,50	0,50
4	♂	gastritis acida	ulcuskur 2 uger	0,30	0,60		0,60	
5	♀	oedema Quincke	C moderat	0,30			1,05	
6	♀	cystitis, obstipatio	C rigelig	0,30		0,70	1,10	
7	♂	ulcus ventric., melæna	C moderat ulcuskur 9 dage	0,15		0,65	0,65	
8	♀	anæmia simplex	C rigelig fuldkost 9 dage	0,35		0,65	0,70	0,45
9	♀	achylia gastr.	C rigelig skaanekost 5 dage	0,20		0,30	0,55	0,40
10	♀	adenitis tub. colli	fuldkost 6 uger	0,30		0,45	0,45	
11	♀	obstipatio	C rigelig feberkost 6 dage	0,40	0,65	0,90	0,70	
12	♂	achylia gastr., obstip., cholelith.	C rigelig feberkost 2 uger	0,28	0,40		0,60	

Nr. Køn	Diagnose	Kostoplysning	Ascorbinsyrekoncentration i mg pr. 100 ml fastende efter belastning				
			1 time	1½ time	2 timer	3 timer	4 timer
13 ♀	anæmia achylica simpl.	C rigelig fuldkost 18 dage	0,25	0,55	0,85	0,90	0,60
14 ♂	depressio mentis	C moderat	0,25		0,80	0,65	
15 ♀	= nr. 13	fuldkost 5 uger	0,40	0,50	0,90	0,95	
16 ♀	nephritis acuta	C moderat flydende 19 dage	0,15		0,70	0,75	
17 ♂	= nr. 14	fuldkost spinatin C 2 × 3 i 17 dage	0,25		0,60	0,70	
18 ♀	insomnia, asthenia	C moderat 1 citron dgl. i 4 dage	0,25		0,60	0,50	
19 ♀	= nr. 16	spinatin C 2 × 3 og 2 citroner dgl. i 3 uger	0,55		1,00	1,45	
20 ♀	= nr. 18	fuldkost 2 citroner dgl. i 3 uger	0,40		0,75		
21 ♀	ulcus duodeni	skaanekost 1 appelsin dgl. i 4 uger	0,30			0,45	
22 ♂	arteriosclerosis, aneurysma femoris, diath. hæg.	C fattig fuldkost 1 uge	0,00			0,20	
23 ♀	c. v.? oedemata, diath. hæg.	skaanekost 1-2 appelsiner dgl. i 1 uge	0,08			0,30	
24 ♀	gastritis acida	skaanekost	0,08			0,30	
25 ♂	colitis hæg.	skaanekost	0,06		0,14		

Alle de undersøgte er voksne patienter. I tabellen findes anført de kliniske diagnoser og de indhentede kostoplysninger med særlig hensyn til C-vitaminindholdet. Belastningerne nr. 1—20 er foretaget i sommer- og efteraarsmaanederne, resten i vinter- og foraaarsmaanederne. Nr. 22 havde — foruden de anførte sygdomme — en »bachelor scurvy« af den typiske art —, han var en 76 aar gammel enkemand, der selv havde sørget for sin kost i lang tid, den havde været meget fattig paa C-vitamin. Han blev ikke nærmere undersøgt, da han forlangte sig udskrevet kort efter belastningens udførelse.

Af tabel 27 fremgaar: 12 af de foretagne belastninger (nr. 2, 3, 4, 7, 9, 12, 13, 15, 21, 23, 24 og 25) er udført paa 11 patienter med forskellige mave-tarmsygdomme, mens de øvrige 12 er udført paa 9 patienter med forskellige andre lidelser, der næppe staar i forbindelse med C-vitaminstofskiftet. (Nr. 22 udelades i denne oversigt).

Diskussion.

For serumascorbinsyrens vedkommende er der for de 2 nævnte grupper nogen forskel i de gennemsnitlige spontane koncentrationer og i de fundne maximumkoncentrationer, idet gennemsnitstallene for mave-patienterne er henholdsvis 0,23 og 0,55 mg pr. 100 ml, og for den anden gruppe 0,35 og 0,92 mg pr. 100 ml. Dette kunde tyde paa, at der findes abnorme forhold ved C-vitaminstofskiftet eller for dets absorption gennem tarmvæggen hos mave-patienter. At dette dog næppe med sikkerhed kan udledes af disse tal, fremgaar af følgende: 1) Der synes at være lige god overensstemmelse med konstanamneserne med hensyn til C-vitaminindgiften i begge grupper; 2) ved optælling af 6 patienter i hver gruppe med omtrent samme spontan-koncentration (0,25—0,30 mg pr. 100 ml), henholdsvis Nr. 2, 3, 4, 12, 13 og 21 og nr. 5, 6, 10, 14, 17 og 18 findes den gennemsnitlige spontankoncentration til 0,29 og 0,27 mg pr. 100 ml og de tilsvarende gennemsnitlige maximumkoncentrationer til 0,61 og 0,78 mg pr. 100 ml. Denne forskel kan næppe tillægges større betydning, dels paa grund af metodens fejlkilder og dels paa grund af de noget forskellige tidspunkter, paa hvilke den maxi-

male koncentration er fundet i de forskellige forsøg. Forsinket stigning findes ikke hos mave-patienter sammenlignet med de andre.

At det i beregningen er tilladeligt at anvende de ved 2, 2½ og 3 timer efter indgiften fundne tal for maximalkoncentrationen fremgaar ligeledes af tabel 27: Ved 14 af belastningerne er koncentrationen bestemt baade efter 2 og 3 timer. Af disse viser de 7 samme værdi ($\pm 0,05$ mg pr. 100 ml), 3 højst efter 2 timer og 4 højst efter 3 timer; kun i 2 tilfælde er forskellen mellem 2 og 3 timers-koncentrationen større end 0,20 mg pr. 100 ml.

Af disse undersøgelser blev draget den *konklusion*, at man ikke ved belastningsprøve udført med en enkelt stor ascorbinsyreindgift pr. os opnaar et bedre udtryk af organismens tilstand med hensyn til C-vitamin end ved bestemmelse af den spontane koncentration i serum.

Den samme konklusion kan ogsaa uddrages af *Herlitz'* afhandling, selvom *Herlitz* selv résumérer paa følgende maade: »It has been demonstrated that the determination of the serum-ascorbic-acid-fasting-value alone gives a less reliable and sometimes quite erroneous picture of the individual C-standard. The necessity of ascorbic-acid loading and of afterwards investigating the ascorbic-acid content of the serum has been emphasized.«

Herlitz undersøgte 44 børn uden og 57 med svær gingivitis i alderen 6—15 aar. Hans tabeller IV og VIII, hvor tilfældene er ordnet i 5 grupper efter kostens C-vitaminindhold, viser i det store og hele stigende spontankoncentration ved C-rigere kost, dog med overgriben ganske svarende til det her meddelte materiale (tabel 24), og endvidere store 2-timers belastningskoncentrationer ved høje spontane værdier. At han i enkelte tilfælde har fundet uoverensstemmelse mellem den spontane værdi og kosten, specielt for lave tal, kan dels forklares ved, at metoden kan have svigtet (titrering udenfor det optimale pH-omraade), og dels ved mulige ukorrekte polikliniske kostanamneser. Yderligere synes der ikke at være bedre overensstemmelse mellem kostanamneserne og belastningskoncentrationerne end mellem kostanamneserne og de spontane koncentrationer.

Belastningsprøver paa sunde voksne individer med *Lund & Lieck's* metode er foretaget af *Lund, Lieck, With & Clemmesen*. De fandt hos 21 personer 2 timer efter indgift af 10 mg ascorbinsyre pr. kg legemsvægt mellem 0,8 og 2,4 mg pr. 100 ml, altsaa betydelig højere tal end dette materiale. Disse undersøgelser er alle foretaget om sommeren.

Det er saaledes endnu et aabent spørgsmaal, hvilken koncentration der er normal efter en belastning med denne metodik. Efter at det synes bevist, at ascorbinsyre er et tærskelstof, har undersøgelser ved belastningsforsøg med foretagelse af enten urin- eller blodanalyser kun en højst betinget værdi: man faar langt bedre oplysninger ved undersøgelser med analyser baade i blod og urin.

Kapitel 6

BESTEMMELSER AF ASCORBINSYRENS NYRETÆRSKEL

At ascorbinsyre for at udskilles i urinen skal have en vis koncentration i blodet, altsaa en nyretærskel, er formodet af *v. Eekelen* i 1936, idet han ved sit balanceforsøg først finder stor udskillelse i urinen ved en blodkoncentration paa 1,40 mg pr. 100 ml. Trods denne formodning mener han dog samtidig, at de smaa reduktioner, som han paaviser i urinen i de perioder af forsøget, hvor kosten er C-vitaminfri, hidrører fra ascorbinsyre og ikke fra andre stoffer. Denne udskillelse fradrages dog ikke i beregningen af det daglige forbrug. *Baumann* (1937) antyder mulighed af en tærskel ved omkring 1,0—1,4. *Lund* viste i 1937 ved undersøgelse af 3 sunde personer, at de havde nyretærskel for ascorbinsyre ved henholdsvis 1,0—1,1; 1,1—1,2 og 0,75—0,9 mg pr. 100 ml.

For nærmere at undersøge nyretærsklens beliggenhed blev *Lund's* undersøgelser fortsat ved tærskelbestemmelser paa ialt 22 kirurgiske patienter (alle voksne mænd) med afebrile sygdomme, som formentlig ikke indvirker paa C-vitaminsstofskiftet. Da forsøgene skulde gennemføres med saa faa blodtagninger som muligt, lykkedes det kun i 12 af forsøgene at faa bestemt koncentrationen i serum i 2 prøver med saa ringe indbyrdes afvigelse før og under udskillelsen i urinen, at tærsklen er nogenlunde fastlagt. Disse 12 forsøg er gengivet i tabel 28 og i figur 14—18; urinkoncentrationen er angivet forskelligt i ordinaten.

Tabel 28.

12 perorale tærskelbestemmelser.

Nr.	Diagnose	Kostoplysninger	Dosis (cg)	Ascorbinsyreconc. mg pr. 100 ml	
				fasten- de	ved udskillelse i urinen
1	fract. fem.	fuldkost 2½ md.	60	0,20	0,35
2	fract. fem. complic.	» »	65	0,20	0,30
3	app. acut. ant.	» 10 dage	120	0,10	0,38
4	fract. crur.	» 4 uger	115	0,26	0,42
5	fract. hum.	» 1 md.	120	0,32	0,98
6	hernia ingv.	» 1 uge	120	0,08	0,44
7	fract. crur.	» 6 uger	100	0,30	0,75—1,00
8	varicocele	blandet kost	115	0,25	0,65
9	colica ureteris	» »	150+ 120	0,06	0,46—0,70
10	fract. metatars.	» »	115×2	0,16	0,46—1,00
11	digit. mallei	» »	115×2	0,10	0,62
12	vuln. digiti	» » + fuldkost 1 uge	120	0,12	0,42

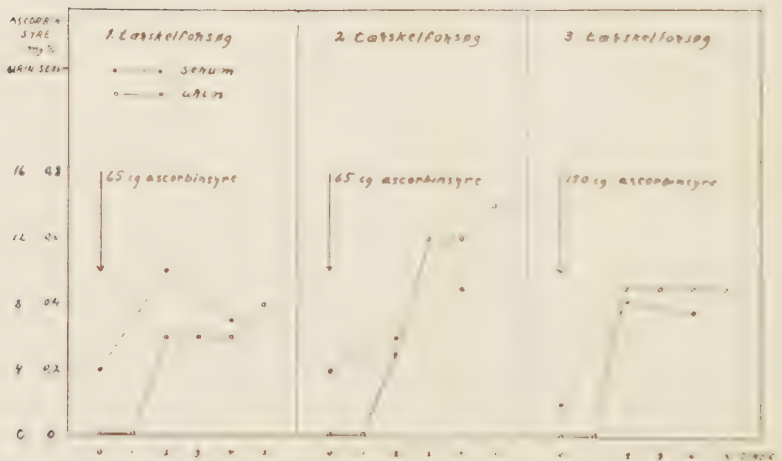


Fig. 14.

1., 2. & 3. tærskelforsøg efter peroral belastning.

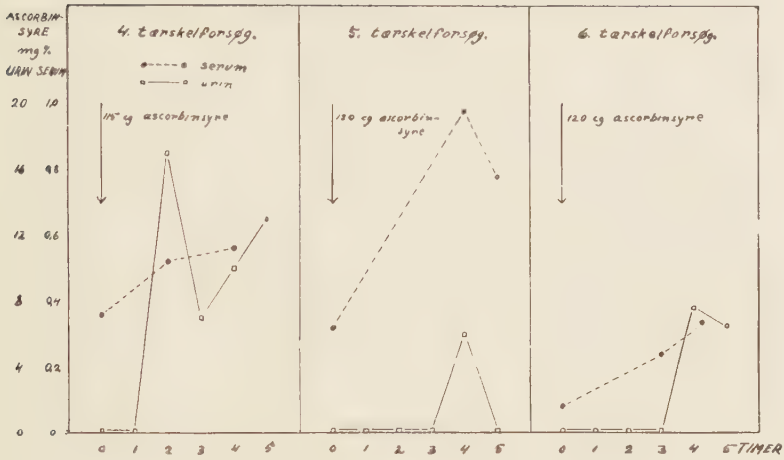


Fig. 15.

4., 5. & 6. tærskelforsøg efter peroral belastning.

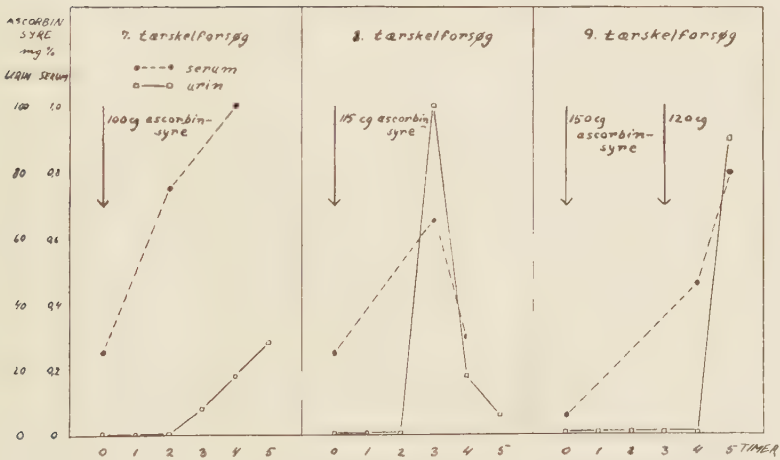


Fig. 16.

7., 8. & 9. tærskelforsøg efter peroral belastning.

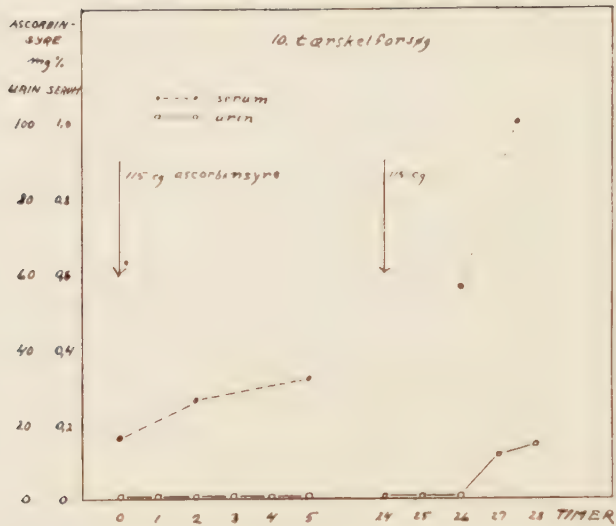


Fig. 17.

10. tærskelforsøg efter peroral belastning.

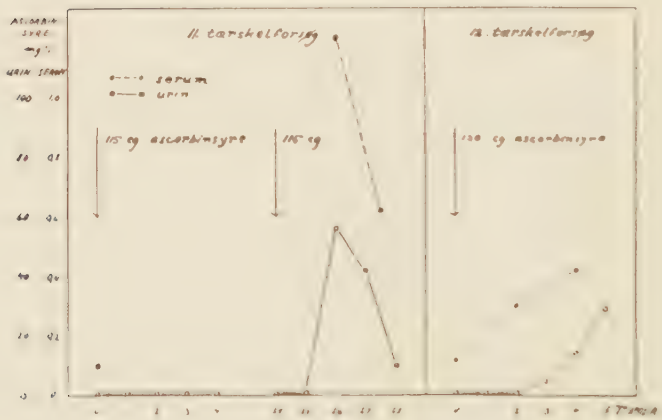


Fig. 18.

11. & 12. tærskelforsøg efter peroral belastning.

Forsøgene er udført ligesom de tidligere omtalte belastningsforsøg med bestemmelse af den fastende ascorbinsyrekoncentration i serum, herefter er der indgivet ascorbinsyre frisk opløst i vand. Forsøgsper-

sonerne har ladet vandet med højst 1 times mellemrum, og der er taget gentagne blodprøver efter nogle timers forløb. Urinen gav ingen spontan reduktion før belastningen.

Diskussion.

Det ses af figurerne, at i 7 af forsøgene, nr. 1—6 og nr. 12, er ascorbinsyren i serum ved begyndende udskillelse i urinen højst 0,2 mg pr. 100 ml over den koncentration, svarende til hvilken der ikke er udskilt ascorbinsyre i urinen endnu. I de øvrige forsøg er den opnaaede fastlæggelse af tærsklen noget mindre.

Tærskelbestemmelserne viser — trods den noget varierede nøjagtighed — at der hos forskellige individer ikke findes nogen konstant blodkoncentration, ved hvilken der begynder at komme udskillelse i urinen.

Samtidig med at de her omtalte tærskelforsøg blev foretaget, fremkom et arbejde af *Wright, Lilienfeld & MacLenathen*. De anbefalede at undersøge »vitamin C saturation« ved en intravenøs belastningsprøve med 1 g ascorbinsyre og samtidige analyser af plasma og urin (titrering med diklorfenolindofenol). De viste, at den maximale blodkoncentration naas 15 minutter efter injektionen og følges af et stejlt fald samtidig med begyndende udskillelse i urinen. Udskillelsen i urinen blev nærmere undersøgt paa 2 sunde individer. Deres fastende plasma-koncentration var 0,66 og 0,46 mg pr. 100 ml; urinen opsamledes i 3 minutters-portioner gennem ureterkatetre indført i begge nyrebækkener. Hos begge fandt der begyndende udskillelse sted allerede efter 6 minutter og herefter stejlt stigende udskillelse, der var nogenlunde ens for begge nyrer. Maximumudskillelsen kom efter 1—2 timers forløb.

Wright, Lilienfeld & MacLenathen's forsøg blev efterprøvet paa nogle patienter uden nyrelidelser, paa hvem der i anden anledning blev foretaget cystoscopi. Det viste sig umuligt at faa tilstrækkelig hurtig nyresekretion fra patienter i narkose; hos enkelte andre patienter maatte forsøgene afbrydes, da det blev uudholdeligt for dem at holde cystoskopet inde i tilstrækkelig lang tid. Hos 2 patienter uden nyrelidelse lykkedes forsøgene. Urinportionerne blev opsam-

let i saa korte intervaller som muligt (dele af urinprøverne skulde bruges til mikroskopi). Ved den første portion, der gav reduktion, — undersøgt expres — blev der igen taget blodprøve til bestemmelse af tærsklen. Resultaterne af disse forsøg fremgaar af tabel 29 og figur 19.

Tabel 29.

2 intravenøse tærskelbestemmelser.

Nr.	Køn	Diagnose	Ascorbinsyrekoncentrationen mg pr. 100 ml	
			inden injektionen	ved udskillelse i urinen
1	♀	cystitis (pyuri)	0,12	0,68
2	♀	cystitis l. g. (coliuri)	0,12	1,64

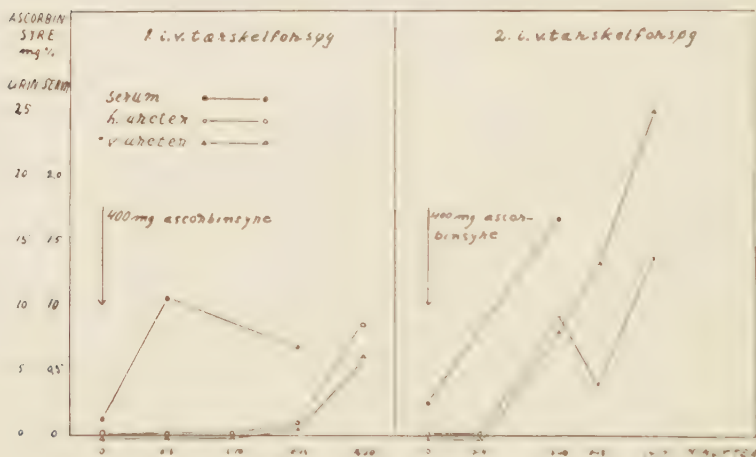


Fig. 19.

1. & 2. tærskelforsøg efter intravenøs belastning.

Det ses, at der i disse to forsøg er fundet begyndende udskillelse lidt senere end i Wright & medarbejdere's, først efter henholdsvis 11–15 og 5–10 minutter. Dette kan muligvis bero på, at der til disse belastningsprover kun er injiceret 400 mg ascorbinsyre (som Natriumsalt, der ikke giver smerte i venen saaledes som selve syren), mens Wright & medarbejdere — som nævnt — injicerede 1 g. Iøvrigt er kurvernes forløb som de

refererede. I første forsøg er ascorbinsyrekoncentrationen i serum ved begyndende udskillelse 0,70, i andet forsøg 1,60 mg pr. 100 ml. Begge disse tal er antagelig noget for høje, idet der i flere minutter inden 2. blodtagning har været udskilt ascorbinsyre i urinen.

Af disse og *Wright & medarbejdere's* forsøg fremgaar alt-saa, at ascorbinsyre udskilles meget hurtigt gennem nyrerne ved en høj koncentration i blodet.

Kapitel 7

NYRETÆRSKLENS BEVÆGELIGHED

Af det foregaaende fremgaar, at der synes at være en betydelig individuel variation i nyretærsklens beliggenhed hos forskellige individer. Det samme fremgaar af de angivelser, som findes i litteraturen. Et udvalg af disse er anført i tabel 30.

De fundne nyretærsklers beliggenhed atviger saa stærkt indbyrdes, at man maa være enig med *Dagulf* i, «dass die Resultate nicht nur mit der Methodik sondern auch individuell variieren». Nogle af de refererede undersøgelser er udført paa sunde, andre paa patienter med forskellige sygdomme; men de store forskelle forklares næppe alene ved de mulige forskelle, som maaske kan findes ved forskellige sygdomme. Det kan tilføjes, at *Bræstrup* i 3 tilfælde har fundet forhold, som han tyder som bevis for nedsættelse af tærsklen under akute febrile sygdomme hos spædbørn (*Disp.* side 81). Hans talforskelle for plasma-ascorbinsyrekoncentrationen uden og med udskillelse i urinen er dog meget smaa: 1,00 — 1,00; 0,84 — 0,92 og 0,96 — 0,88; de er næppe helt udenfor den anvendte metodes forsøgsfejl.

I 1937 fandt *Zacho* hos en patient med kronisk hæmorrhagisk colitis en betydelig ascorbinsyreudskillelse i urinen, skønt der i serum ikke var sikker paaviselig ascorbinsyre. Under behandling med ascorbinsyre og citrin indtraf en bedring, og samtidig steg tærsklen fra 0 til 0,23 mg pr. 100 ml. *Zacho* antog, at tærskelstigningen var en følge af citrinbehandlingen.

Foranlediget heraf blev tærsklens bevægelighed undersøgt af *Lund* paa en sund forsøgsperson; han fandt efter en kraftig citronindgift en stigning fra 1,1 mg pr. 100 ml (bestemt tidligere) til 2,75 mg pr. 100 ml.

Forsøgene over tærskelflytning blev fortsat af mig. Resultatet af 5 forsøg fremgaar af tabel 31—35 og figur 20—22.

Tabel 30.

Exemplar paa nyretærsklens beliggenhed.

Aar	Forfatter	Antal under- søgte	Undersøgtes alder	Undersøgelsesmetode		Tærsklens beliggenhed mg pr. 100 ml
				blod	urin	
1936	v. Eekelen	1	voksne	Df. + H ₂ S	Df. + H ₂ S	1,4
»	Degeller	5	»	»	»	0,9—1,5
1937	Baumann	3	» (ammer)	»	»	> 1,0
»	Lund	3	voksne	Mb.	Mb.	0,75—1,2
1938	Ungley	4	»	»	»	0,5—1,0
»	Mawson	1	»	Df.	Df.	0,5—0,76
»	Wachholder	?	»	Mb.	Mb.	1,2—1,4
»	Høygaard & Rasmussen	?	»	Df. + H ₂ S	Df. + H ₂ S	og ca. 1,8 0,7—1,4
»	Wright & Mac Lenathen	5	»	Df.	Df.	> 1,4
»	Faulkner & Taylor	100	»	Df. + KCN	»	1,4
»	Bræstrup & Hansen	17	»	Df.	Mb.	> 0,72—1,92
1939	Bræstrup	11	spædbørn	»	»	0,8—1,6
»	Dagulf	40 (?)	voksne	»	Df.	0,24—0,6
»	Kellie & Zilva	2	»	»	»	0,54—0,73
»	B. & E. Groth- Petersen	18	»	Mb.	Mb.	0,08—0,5
»	Goldsmith & Ellinger	22	»	Df.	Df.	ca. 1,4

Tabel 31.
1. tærskelflytningsforsøg.

♂ 29 aar, sund.

Ascorbinsyre mg pr. 100 ml					
Forsøgs- dag	urin	Serum		Ordination	Bemærkninger
		spon- tant	ved udsk. i urin		
1	0	0,18		ascorbinsyre 100 mg	
3, 6, 9	0			»	
10	1,0		0,38	sep. »	
11, 13,					
16, 17	0				
19	0—1,3	0,27	0,38	rp. 3 citroner	Belastningsprøve, citronerne tages om morgen.
21, 22, 23,					
25, 27, 28	0			»	»
30	1,2			»	»
31	1,4			»	»
32	1,8			»	»
34	0			»	»
35	0—2,7	0,70	0,88	»	Belastningsprøve, citronerne tages om eftermiddagen.
37	1,3			»	»
38, 39,					
42, 43	0			»	»
44	0,6			»	»
45	1,2			»	»
46	2,0			»	»
48	2,2			»	»
49, 50	0			»	»
51	0—4,8	0,80	1,00	sep. 3 citroner	Belastningsprøve.
53, 56	0				
57	0	0,56			
59, 60, 62	0				
63	0	0,50			
65, 67	0				
69	0	0,45			
72, 73,					
74, 77, 80	0				
81	0	0,43			
83, 84,					
86, 88	0				
90	0—0,8	0,39	0,53		Belastningsprøve.

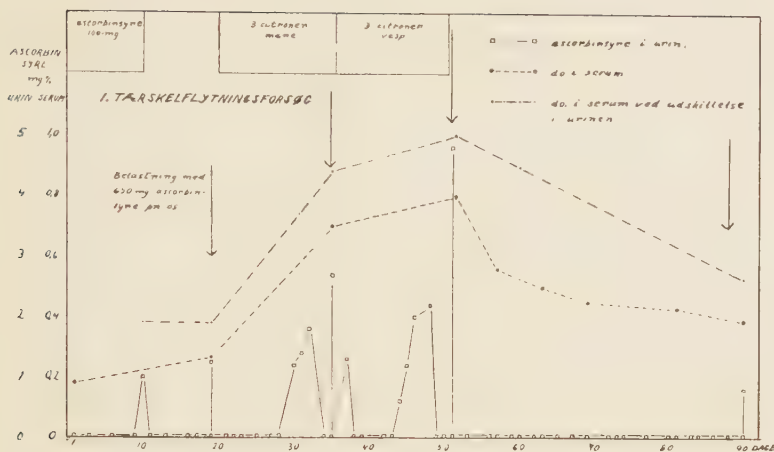


Fig. 20.
1. tærskelflytningsforsøg.

Tabel 20.
2. tærskelflytningsforsøg.

♂ 28 aar, Blegdamshosp. afd. 35, fb. undulans.

Forsøgs- dag	Ascorbinsyre mg pr. 100 ml			Ordination	Bemærkninger
	urin	Serum spontan- t	ved udsk. i urin		
1	0—0,9	0,00	0,20	2 citroner dgl.	Belastning.
2, 3, 4, 6, 8, 9, 11, 13, 14	0			»	
15		0,20	0,49		Belastning.

Tabel 33.

3. tærskelflytningsforsøg.

♂ 62 aar, Blegdamshosp. afd. 17, Zoster ophthalmic.

Forsøgs- dag	Ascorbinsyre mg pr. 100 ml		Ordnation	Bemærkninger
	urin	Serum spontant ved udsk. i urin		
1	0—1,4	0,05 0,25	2 citroner dgl.	Belastning.
2, 3, 5, 7, 8, 10, 12	0		»	
14	0	0,32	»	
15, 16	0		»	
17	0—1,2	0,34 0,84		Belastning.

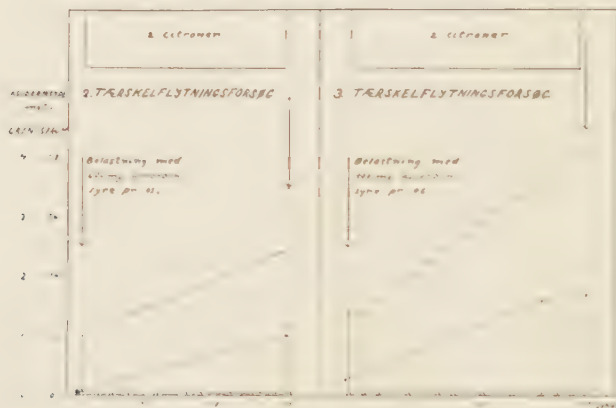


Fig. 21.

2. og 3. tærskelflytningsforsøg.

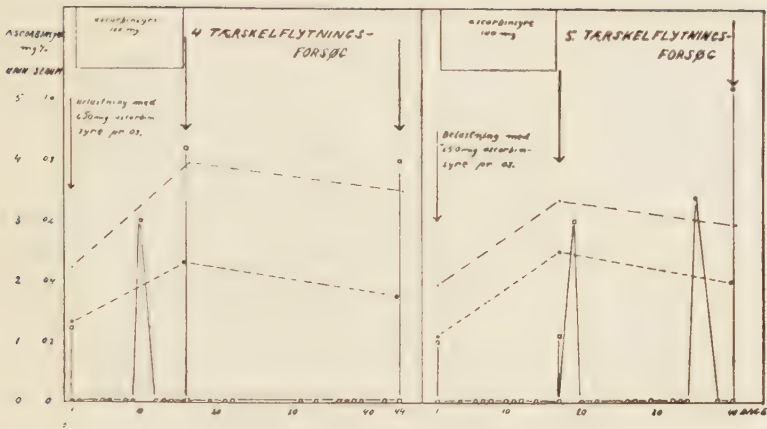


Fig. 22.

4. og 5. tærskelflytningsforsøg.

Tabel 34.

4. tærskelflytningsforsøg.

♂ 34 aar, sund.

Forsøgs- dag	Ascorbinsyre mg pr. 100 ml			Ordination	Bemærkninger
	urin	Serum spontant	ved udsk. i urin		
1	0—1,2	0,26	0,44	ascorbinsyre 100 mg	Belastning.
2, 5, 6, 8,					
9	0			»	
10	3,0			»	
12, 13, 14	0			»	
16	0—4,2	0,46	0,79	sep. »	Belastning.
19, 21, 22	0				
31, 33,	0				
36, 37,					
38, 42					
44	0—4,0	0,35	0,70		Belastning.

Tabel 35.

5. tærskelflytningsforsøg.

♂ 31 aar, sund.

Forsøgs- dag	Ascorbinsyre mg pr. 100 ml			Ordination	Bemærkninger	
	urin	spontant	ved udsk. i urin			
1	0—1,0	0,22	0,39	ascorbinsyre 100 mg	Belastning.	
4, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 14	0			»		
17		0—1,1	0,50	0,67	sep. »	Belastning.
19		3,0				
20, 22,						
26, 27, 29	0					
32, 33, 34	0					
35	3,4					
36, 38	0					
40	0—5,2	0,40	0,59		Belastning.	

Belastningerne blev udført som sædvanligt ved indgift af 10 mg ascorbinsyre frisk opløst i vand pr. kg legemsvægt. Urinen blev undersøgt med saa korte mellemrum som gennemforligt, d. v. s. hver 20.—30. minut i forsøg nr. 1, 4 og 5 og hver time i forsøg nr. 2 og 3. Der kom udskillelse i urinen $1\frac{1}{2}$ —3 timer efter indgiften.

Diskussion.

I alle 5 forsøg er det lykkedes at flytte nyretærsklens beliggenhed ved indgift af citroner eller ascorbinsyre. Samtidig ændres den »spontane« koncentration, den stiger og falder svarende til indgiften af C-vitamin. Der synes for de forskellige forsøgspersoner at være tendens til opretholdelse af en nogenlunde konstant afstand mellem den spontane koncentration i serum og den koncentration, ved hvilken udskillelsen i urinen begynder. Nogen sikker forskel i ascorbinsyrens eller citronsaftens virkning kan ikke udledes af forsøgene, da de er begyndt ved forskellige ascorbinsyrekoncentrationer i serum og gennemført med forskellig dosering.

I første tærskelflytningsforsøg kom der 30.—32. dag en betydelig udskillelse i urinen. Da man antog, at den — i hvert fald

delvis — skyldtes, at citronsaften var taget 6 timer før urinundersøgelsen, blev tidspunktet for citronsaftindgiften flyttet til om eftermiddagen, saaledes at de følgende urin- og blodprøver blev taget ca. 20 timer efter citronsaftindgiften. Trods dette kom der igen 44.—48. dag en tiltagende udskillelse, antagelig et tegn paa, at nyretærsklen næppe kunde hæves yderligere. Det var efter belastningsproven paa 52. dag nødvendig at afbryde citronsaftindgiften, da den — efter 32 dages forløb — var blevet ganske ulidelig for forsøgspersonen.

Hos ingen af forsøgspersonerne i forsøg nr. 1, 4 og 5 var der nogen forskel i almenbefindendet i perioderne med eller uden citronsaft- eller ascorbinsyredosering. En af forsøgspersonerne angav, at ascorbinsyreindgiften virkede diuretisk.

Alle forsøgspersonerne fik udover den periodiske indgift af ascorbinsyre eller citronsaft almindelig blandet kost med moderate mængder af grøntsager og frugt. Forsøgene kan saaledes ikke bidrage til afgørelsen af, hvilken faktor i kosten, som eventuelt kan have indflydelse paa tærskelstigningen hos normale individer. Da der ogsaa findes et fald i tærsklens beliggenhed med nedadgaaende spontan serumkoncentration, er den tanke nærliggende, at tærsklens beliggenhed paa en eller anden maade reguleres af den spontane serumkoncentration. Ved denne mekanisme opnaar organismen ved en pludselig kostændring til en C-vitamin-rig kost at kunne retinere størstedelen af den indgivne C-vitaminmængde. At meget store doser ikke tilbageholdes, er kendt fra ascorbinsyre- og citronsaftbelastningerne; ogsaa den stopfodring med C-vitamin, som finder sted hos mange i jordbærsæsonen, giver i en del tilfælde udskillelse i urinen. I resten af aaret er der ingen udskillelse hos normale.

Som det fremgaar af tabel 30, har en del forfattere fundet nyretærsklens beliggenhed i nærheden af 1,4 mg pr. 100 ml bestemt med diklorfenolindofenol. Disse tal er tilsyneladende ganske i modstrid med de af andre fundne lave værdier. De fleste tærskelbestemmelser omkring 1,4 mg pr. 100 ml er fundet efter længere tids indgift af ret smaa daglige ascorbinsyremængder paa ca. 250—300 mg. Hvis man antager, at nyretærsklens bevægelighed kun er mulig indtil en vis maximalkoncentration af ascorbinsyre i blodet og ikke kan hæves yderligere,

vil dette delvis kunne forklare de store forskelle i tærsklens beliggenhed.

Kellie & Silva (1939) er kommet til et lignende resultat som det her paaviste angaaende nyretærsklens bevægelighed: „— — there is no constant renal threshold for ascorbic-acid, but there is a competition for the ascorbic-acid of the blood by absorptive capacity of the tissues and the excreting function of the kidney.“ Ogsaa *Dagulf* har iagttaget dette ved forsøg med daglig ascorbinsyreindgift.

Wachholder har — med modificeret *Martini & Bonsignore*-teknik — fundet, at nyretærsklen enten ligger ved ca. 1.2 mg pr. 100 ml (»Typus 1«) eller sjældnere ved ca. 1.8 mg pr. 100 ml (»Typus 2«). Typus 1 skal findes hos 90 % af de undersøgte. Typus 2 hos 10 %, antallet af undersøgte er ikke meddelt.

Den nærmere mekanisme ved ændringer af nyretærsklen er i øjeblikket ganske ukendt; men det maa være tilladeligt at tænke paa en regulering over en eller flere af de endocrine kirtler i analogi med de abnormiteter, der findes for udskillelse af tærskelstoffer ved forskellige endocrine sygdomme. Som eksempel skal her blot nævnes den af *W. Thune Andersen* paaviste stigning af sukkertærsklen hos patienter med mb. Basedowii efter strumectomi.

Til yderligere belysning af ascorbinsyrens udskillelsesforhold gennem nyrene foreligger følgende nyere undersøgelser:

Leblong redegør for nogle frøforsøg. Han injicerer 12 mg ascorbinsyre neutraliseret med litiumkarbonat opløst i 1 ml serum intravenøst i abdominalvenen. Ved glomeruluspunktur findes herefter i filtratet en reduktion svarende til 120 mg pr. 100 ml, mens der normalt i frøurin kun findes reduktion svarende til 2 mg pr. 100 ml. Dette anføres som bevis paa, at ascorbinsyre filtreres gennem glomeruli, et resultat som næppe er overraskende i betragtning af stoffets molekylstørrelse. *Leblong* finder ingen udskillelse i frø-ureterurin efter underbinding af glomeruluskarrene; men ved disse forsøg finder han store histologisk-paaviselige mængder af ascorbinsyre i tubulicellerne. Dette fund forklarer han ved, at der enten maa være foregaaet en direkte diffusion fra karrene eller ogsaa en reabsorption af

ascorbinsyre fra de smaa mængder af tubuli-urin, som udskilles under de nævnte forsøgsbetingelser.

Faulkner & Taylor (1938) fastslaaer paa basis af 100 balance-forsøg med oral og intravenøs belastning med store doser ascorbinsyre (1 g), at stoffet har en nyretærskel omkring en blod-koncentration paa 1,4 mg pr. 100 ml. Ligesom *v. Eekelen* opfatter de den mindste reduktion i urinen paavist med diklor-fenolindofenol (uden svovlbrintebehandling) som udtryk for ascorbinsyre. *Wright & MacLenathan* finder hos 2 patienter med nyresygdomme (malign hypertoni og glomerulonefritis) med urinstofretention en forsinket udskillelse sammenlignet med 3 personer med normal nyrefunktion — trods normal stigning af plasmakoncentrationen. Dette beskrives som »kidney retention«. Dette fund ved nyresygdomme er bekræftet af *Sendroy & Miller*, som konkluderer, at langsom udskillelse i urinen ved belastningsprøve ikke nødvendigvis er et tegn paa et lavt ascorbinsyreindhold i legemet (blodet), naar nyrefunktionen er nedsat. Nedsættelsen af ascorbinsyre-clearance finder de tilnærmelsesvis parallel med nedsættelsen af urinstof-clearance.

Endelig viser *Ralli, Friedman & Rubin* ved simultane bestemmelser af ascorbinsyre- og inulin-clearance: 1) ascorbinsyre udskilles ved glomerulusfiltration og reabsorberes aktivt i tubuli. 2) Reabsorptionen er begrænset ved en maximal størrelse; tilbydes der mere ascorbinsyre i glomerulusfiltratet, udskilles overskuddet i urinen. Den maximale reabsorption findes (i gennemsnit for 3 personer) til 2,16 mg ascorbinsyre pr. minut eller 1,77 mg pr. 100 ml glomerulusfiltrat. 3) Udskillelsen i urinen afhænger da af a) plasmakoncentrationen, b) glomerulusfiltrationens størrelse og c) reabsorptionens maximum. Ved lav plasmakoncentration finder de lav og konstant clearance for ascorbinsyre.

De her refererede afhandlinger synes altsaa at give nye oplysninger om ascorbinsyrens udskillelsesforhold gennem nyrerne. En nærmere vurdering af de fundne resultater er næppe mulig i øjeblikket; mange af forsøgene er beskrevet uden detaljer og trænger til efterprøvning, men flere af de paaviste egenskaber ved nyrens rolle i C-vitaminstofskiftet har sandsynlighedens præg.

Kapitel 8

C-HYPOVITAMINOSEN

a) Laboratoriediagnosen.

v. Eekelen, Emmerie, Josephy & Wolff var de første, der meddelte resultater om ascorbinsyretitreringer i urin hos normale paa kontrolleret C-vitaminindgift. Sammen med *Johnson & Zilva* indførte de begrebet mætning, som i en overvejende del af al senere litteratur om C-vitaminstofskifte og behov har været den hjørnesten, hvorefter de fleste undersøgelser har drejet sig.

At give en detailleret og fuldstændig gennemgang af mætningsbegrebet vilde ganske sprænge rammerne for dette arbejde, da litteraturen er umaadelig omfattende, f. ex. udkom i 1938 pr. måned 50—100 afhandlinger om C-vitaminundersøgelser. Men de banebrydende arbejder med specielt hensyn til kriterierne for normale og unormale forhold skal omtales:

Ved mætning forstod *v. Eekelen* og *Johnson & Zilva* en tilstand med optimal C-vitamintillørsel karakteriseret ved, at rigeligere C-indgift udskilles i urinen (mere eller mindre kvantitativt). *Johnson & Zilva* er dog straks yderst forsigtige med at beregne behovet for C-vitamin ved denne undersøgelsesmetode: »The exploratory experiments performed with the object of ascertaining whether under certain conditions such a complete saturation and a suitable dose, the balance between the intake and the urinary excretion of ascorbic acid could possibly be utilized as a means of determining the daily requirements of the vitamin were disappointing.«

I modsætning hertil slaar *Harris, Ray og medarbejdere* fast, at urintitrering med diklorfenolindofenol er brugbar til beregning af det daglige C-vitaminbehov; samtidig angiver de —

ligeledes kategorisk og baseret paa faa undersøgelser — hvilke tal, der er normale, og hvilke der er patologisk lave. Paa grund af de vidtgaaende konklusioner, som er draget af talrige forfattere jorden over med titrering a. m. *Harris & Ray*, skal her nævnes det grundlag, paa hvilket de fastlægger deres normer:

1) *Harris, Ray & Ward*, 1933: undersøgelse af døgnudskillelsen paa 4 personer findes paafaldende konstant ved 33 mg; de anfører, at denne udskillelse er noget større end indgiften.

2) *Harris & Ray*, 1935: undersøgelse paa 24 børn delvis med scorbut og paa 8 voksne. De indfører en enkelt-belastningsprøve med indgift af ca. 10 mg pr. kg oralt. Hos scorbutpatienterne findes lav »resting level« og ringe stigning efter belastning. Hos voksne med lav indgift findes lav udskillelse og ringe stigning efter belastning. Paa god kost udskilles 20—38 mg pr. døgn. Proven anses for bedre end *Göthlin's*.

3) *Abbasy, Harris, Ray & Ward*, 1935: undersøgelser paa 5 voksne og enkelt-undersøgelser af uriner fra 26 børn. Efter en konstant C-indgift i nogen tid kommer der en konstant døgnudskillelse i urinen; dens størrelse er proportional med indgiften. De finder stadig god overensstemmelse mellem den spontane udskillelse og udskillelsen efter en belastning. De fastsætter følgende grænser for døgn-spontanudskillelsens betydning:

10 mg grænse mellem for lidt og adækvat indgift.

20 » moderat indgift.

40 » rigelig »

I den følgende publikation:

4) *Harris, Abbasy & Yudkin*, 1936, er de lige nævnte normer dog alle ændret noget, idet der konkluderes, at har et individ en »resting level« under 13 mg pr. døgn og ikke tydelig stigning 1. eller 2. døgn efter en belastningsprøve, har hans kost indeholdt mindre end »minimal-optimal requirement«. De mener, at denne størrelse er omtrent lige saa stor som *Göthlin's* »physiologic minimal requirement«, og at denne er lavere end den optimale.

5) *Harris & Abbasy*, 1937, simplificerer undersøgelsen til en analyse af een urinportion ladet 3 timer efter belastning.

Yderligere kan det anføres, at mens de i det første arbejde

præciserer, at metoden næppe er specifik, hedder det i nr. 2: cystein og ergotionin er de eneste fejlkilder, og i nr. 3: fejlkilderne er kun af akademisk interesse.

Harris & medarbejdere angiver forskellige fremgangsmaader til at præservere ascorbinsyre i urin ved tilsætning af forskellige mængder af svovlsyre eller iseddikesyre, mørke flasker, issskab o. s. v.. Spørgsmaalet om en sikker metode til at gøre ascorbinsyre holdbar i urin er næppe løst og kan næppe løses, idet mange forfattere har fundet vidt forskellig stabilitet i forskellige urinprøver. De fleste af de angivne metoder er senere fundet utilstrækkelige ved efterprøvninger. Trods dette angives der stadig nye metoder; den seneste er *Leibowitz & Guggenheim's*.

Som nævnt paa side 75 er det ikke ascorbinsyre, der bestemmes ved titrering med diklorfenolindofenol i urin, undtagen efter belastningsprover eller særlig store C-vitamintilførsler.

Med de tidligere omtalte metoder til ascorbinsyreanalyser i blod forelaa der hurtigt nogle erfaringer, hvorefter grænsen mellem normale og patologiske værdier blev trukket; men ofte paa et erfaringsmateriale af omtrent lige saa beskeden størrelse som ved urinalyserne:

I blodet hos 10 voksne patienter »with clinical manifestations of scurvy« fandt *Taylor, Chase & Faulkner* en plasma-ascorbinsyrekonzentration mellem 0,11 og 0,55 mg pr. 100 ml, i gennemsnit 0,25 mg pr. 100 ml. Hos 33 raske individer findes 0,85—2,24 mg pr. 100 ml (metode: titrering med diklorfenolindofenol efter proteinfældning med natriumwolframat + KCN).

Ingalls finder hos 9 raske børn, der fik rigelige mængder appelsinsaft, 0,49—1,10 mg pr. 100 ml; hos 5 syge børn uden tilskud af C-vitamin 0,14—0,38 mg pr. 100 ml og hos 7 børn med scorbut 0,0—0,16 mg pr. 100 ml (metode: titrering med diklorfenolindofenol efter proteinfældning med metafosforsyre + KCN).

De nævnte og talrige andre forfattere sætter laveste normale grænse for serum- eller plasmaascorbinsyre mellem 0,6 og 0,7 mg pr. 100 ml; men — som fremhævet af *Ingalls*: »Where the level of suboptimal intake gives way to asymptomatic scurvy

is the important feature if the test is to have any diagnostic value.«

I et stort materiale viser *Bræstrup*, at plasmaascorbinsyren hos normale spædborn ernæret med komælk ligger under 0,5 mg pr. 100 ml, mens plasmaascorbinsyren hos brystbørn, der ofte har udskillelse i urinen, ligger over 0,5 pr. 100 ml.

Paa tilsvarende maade viser talrige erfaringer fra undersøgelser hos voksne, f. ex. *Worthis & medarbejdere's*, at der ikke blot hos scorbutpatienter, men ogsaa hos talrige andre findes ganske lave tal, uden at det er ledsaget af selv det ringeste kliniske symptom; de laveste tal findes af og til ogsaa hos personer, hvis kost ikke er særlig fattig paa C-vitamin. Dette er bekræftet af *Ottsen, Lieck & Brinck*.

Ved samtidig undersøgelse af urin- og blodkoncentrationer kan de to metoder sammenlignes:

Wolff (1936) anfører resultatet af sammenlignende undersøgelser af urin og blod i et stort materiale paa følgende maade:

Mætning: 1,2—1,4 mg pr. 100 ml fuldblod.

»Omtrent normalt«: 0,6—1,2 » » » » »

Præscorbut: 0,4—0,6 » » » » »

Bestaaende eller truende scorbut: under 0,4 mg pr. 100 ml fuldblod.

I en følgende publikation (*v. Eekelen, Ennmerie & Wolff*, 1937) ændres bedømmelsen til:

Mætning: over 1,2 mg pr. 100 ml fuldblod

Mætningsgraden er god: 0,8—1,2 » » » » »

« « middel: 0,4—0,8 » » » » »

« « daarlig: 0—0,4 » » » » »

Det famøse præscorbut er saaledes forsvundet. Disse tal bekræftes af *Neuweiler* (1938). Han udfører blodanalyser efter ovennævnte metode og mætningsforsøg efter *Jezler & Kapp* (se nedenfor) og kommer til følgende resultat:

12 personer med blodkonc. 1—1,5 mg pr. 100 ml: 11 mættes paa højst 4 dage.

5 personer med blodkonc. under 0,6 mg pr. 100 ml: Alle mættes paa 6—8 dage.

27 personer med blodkonc. 0,6—0,95 mg pr. 100 ml: Mættes dels paa mindre og dels paa mere end 4 dage.

Neuweiler konkluderer heraf, at mætningsgraden kan bedømmes ved en blodanalyse, hvis resultatet ligger under 0,6 eller over 1,0 mg pr. 100 ml; men mellemværdierne bør suppleres med mætningsforsøg. Mætningsforsøg efter *Jezler & Kapp* (1936) udføres som seriebelastning med daglig indgift af 300 mg ascorbinsyre pr. os og bestemmelse af udskillelsen i urinen fra de følgende 12 timer. Mætning er tilstede, naar 50 % af indgiften udskilles i dette tidsrum. Størrelsen af »C-Bedarf« udtrykkes i antallet af dage indtil mætningen. Som grænsen for det normale anføres 4 dage. Denne grænse er fastlagt ved undersøgelse af 3(!) sunde personer: 2 paa en god kost viste mætning paa 4. dag, 1 efter lang tid C-fattig kost først paa 11. dag. I deres følgende meddelelse (*Jezler, Kapp & Ippen*, 1938) udtrykker de sig med større forsigtighed paa grundlag af undersøgelser af urinudskillelsen hos 183 patienter med forskellige sygdomme. De indfører begrebet »Retention« og forstaar herved den tilstand, hvor der under indgift af 300 mg ascorbinsyre daglig pr. os udskilles mindre end 150 mg i urinen. Der finder nu »normalt« en retention op til 9. dag; af de 183 patienter havde 70 % normal retention. De har ingen blodanalyser til sammenligning af disse tal.

Baumann (1937) anfører efter sammenlignende undersøgelse af urin, mælk og blod (*Emmerie & v. Eekelen's* metode) fra 3 ammer:

0,8—1	mg	pr. 100 ml	daarlig	mætningstilstand	
1,0—1,4	»	»	»	middelmaadig	»
over 1,4	»	»	»	god	»

De i dette afsnit refererede undersøgelser er i vid udstrækning blevet bekræftet i talrige andre publikationer; men hovedtrækkene af de opnaaede resultater og de deraf dragne konklusioner behøver ingen yderligere dokumentation. Det fremgaar med al ønskelig tydelighed, at diagnosen C-hypovitaminose bestemmes ved laboratorieundersøgelser af ofte ringe nøjagtighed og paa kriterier, hvoraf flere er opstillet paa basis af ganske faa undersøgelser uden tilstrækkeligt kontrolmateriale. Yderligere mang-

ler ethvert bevis paa, at mætning er den normale tilstand. Mætning kan findes saavel hos Brystbørn, hvis mødre faar rigelig C-vitamin, som hos voksne paa særlig C-vitaminrig kost, bl. a. om sommeren hos de meget kaal- og løgspisende Hollændere og hos beboerne i Palæstina i appelsin-højsæsonen. Men disse — ret spredte — fund beviser intet om, at den umættede tilstand er noget patologisk.

Forskellige forfattere (bl. a. *Neuweiler* og *Wachholder*) har da ogsaa »forsigtigt« delte de fundne mætningsdeficit i fysiologisk og patologisk deficit; men deres kriterier for grænsen mellem de to former for deficit er ganske vilkaarlig valgt. Om den umættede tilstand er fysiologisk eller patologisk, kan derfor indtil videre kun afgøres ved kliniske undersøgelsesmetoder.

b) *Den kliniske diagnose af C-hypovitaminose.*

Omtale af sygdommen scorbut hos børn og voksne, sygdommens klinik, patologiske anatomi og historie falder udenfor nærværende afhandlings rammer.

Overgangsformen mellem den sunde tilstand og den manifeste scorbut har i en lang aarrække interesseret talrige klinikere, som mere eller mindre sikkert har ment at kunne stille diagnosen ved hjælp af den eventuelle tilstedeværelse af forskellige symptomer. At symptomer dog ikke er noget, som altid skal være til stede, fremgaar af flere af de betegnelser, som er anvendt: Latent or potential scurvy, subacute scurvy, asymptomatic scurvy eller Præskorbut. Der er dog talrige forfattere, som tillægger C-hypovitaminose visse »typiske« kliniske symptomer. De hyppigst omtalte (efter *Seyderhelm*, *Stepp* og *Wright*) er: Almen træthed, »foraarstræthed«, depression, ulyst til legemligt og aandeligt arbejde; svimmelhed, hovedpine, kvalme »rheumatiske« smerter i led og muskler. Desuden blødningstendens, især i form af tandkøds-, næse- og hudblødninger, og rester af blødninger i form af pigmenterede pletter især paa underekstremiteterne. Nogle anfører, at anæmi hører med til C-hypovitaminosen. Blødningerne skal være en følge af capillærskørhed, som kan være tilstede latent uden manifeste blødninger (*Göthlin*). Ogsaa forskellige tandsygdomme, bl. a. paradentose og caries er sat i forbindelse med C-hypovitaminosen hos mennesket.

Dette er gjort i analogi med de hos marsvinet fundne tandforandringer (*Höjer, Westlin*), som kan optræde efter en kost, der er tilstrækkelige C-vitaminholdig til at forebygge de makroskopiske tegn paa scorbut. Endelig gør *Ingalls* opmærksom paa, at pachymeningitis hæmorrhagica interna, der især optræder hos småbørn, alkoholister og sindssygepatienter, sandsynligvis er fremkaldt af en blødningstendens paa scorbutisk basis.

Bevisende for de nævnte symptomers specifikke ætiologi skal det være, at de ofte findes, kort før en scorbut bliver manifest, og at de helbredes (svinder) under en C-vitaminterapi.

Paa almindelig systematisk vis inddeles C-hypovitaminosen i primær og sekundær; primær opstaaet paa grund af mangelfuld tilførsel af C-vitamin, og sekundær opstaaet under forløbet af sygdomme, hvor der antages at være et oget forbrug. Dette skal især være tilfældet ved infektionssygdomme, diabetes og maligne svulster. Endelig skal C-hypovitaminose forekomme ved forskellige mave-tarmsygdomme, hvor der formodes en abnorm destruktion paa grund af neutral eller alkalisk mavesaft, eller paa grund af destruktion som følge af abnorm bakteriefloora i tarmkanalen. Endelig antager flere, at der er abnormiteter ved resorptionen.

Saaledes finder *Archer & Graham* hos ulcuspatienter store deficit a. m. *Harris & Ray*; og bl. a. *Björkmann & Backman* finder lave tal for indholdet i blodet hos akyli- og ulcuspatienter. I det i Kapitel 3 meddelte materiale findes en saadan forskel ikke; og *Guldager & Heintzelmann* finder ingen korrelation mellem serumascorbinsyrens aarstidsvariation og den aarlige vekslen i hyppigheden af blodende mavesaar. I en nylig fremkommet meddelelse af *Alt, Chin & Farmer* angives det, at abnorm lav plasmakoncentration hos akylipatienter paa en "adækvat" kost med over 30 mg ascorbinsyre daglig kun findes ved anæmia perniciosa og ikke ved simple anæmier, men i begge sygdomsgrupper ved "inadækvat" kost med lavere C-indhold.

Bakteriedestruktion er bl. a. undersøgt af *Gaggi & Ujsaghy*, der finder, at talrige stammer af colibaciller i vitroforsøg ikke kan fermentere ascorbinsyre. *Kendall & Chin* anfører, at *B. mucosus capsulatus* kan fermentere indtil 50 % paa 12 timer og 97,5 % paa 24 timer, baade under aerobe og anaerobe betin-

geler. Samtidig viser de, at tilstedeværelse af sukker udskyder dekompositionen betydeligt. Hvis ikke andre bakterier har denne evne i større grad, vil destruktoren i tarmkanalen kun være af praktisk betydning hos patienter med forsinket ventrikel- og tarmpassage.

Objektivt sikre og specifikke kriterier findes saaledes ikke til at stille diagnosen C-hypovitaminose; men ved forfinede røntgenologiske og patologisk-anatomiske undersøgelser paaviste *Park & medarbejdere*, at hos børn fandtes sygdommen scorbut af og til fuldtændig uden kliniske symptomer, altsaa som latent scorbut. Hos voksne er der endnu ingen enighed om et specifik histologisk billede ved latent eller manifest scorbut udover de af blødninger betingede; kun er der af *Westin* paavist visse forandringer af tandpulpa, dentin og cement sammen med osteoporose og atrofi af kæben. Disse forandringer mener *Westin* er specifikke for scorbut og delvis ogsaa for C-hypovitaminose.

Kapillærresistensundersøgelse som kriterium for latent scorbut er særlig blevet anvendt efter 1931, da *Göthlin* meddelte sine resultater med den af ham udarbejdede metode. Han har senere (1937) ændret metoden lidt ved beregning af et saakaldt petechial-index, hvorved de petechier, der fremkommer ved et overtryk paa 35 mg Hg tillægges langt større vægt end de petechier, der fremkommer efter et overtryk paa 50 mg Hg.

Göthlin's metode er blevet kritiseret stærkt; men mange af kritikerne har overset *Göthlin's* anvisning paa, at metoden kun er specifik hos sunde personer. Andre har benyttet modificerede fremgangsmaader og derefter kritiseret den originale metode; yderligere er der ofte fundet daarlig overensstemmelse mellem udfaldet af kapillærresistensundersøgelser og analyser af ascorbinsyrekoncentrationen i blodet.

Armentano & medarbejdere mente i 1936 at kunne paavise, at kapillærpermeabiliteten er afhængig af citrin, ogsaa kaldet P-vitamin, som findes i mange vegetabiliske produkter sammen med C-vitamin. P-vitamin-spørgsmaalet er imidlertid endnu uafklaret, dels fordi *Armentano's* kliniske resultater ikke er blevet bekræftet ved efterundersøgelser, og dels fordi *Zilva* paaviste, at det originale citrinpræparat ikke var fuldstændig C-vitaminfrit.

Indtil videre er det altsaa uafgjort, om nedsat kapillærresistens som isoleret fund hos sunde er et symptom paa P- eller C-mangel eller en kombination heraf. Abnorm kapillærpermeabilitet kan som bekendt ogsaa forekomme ved mange sygdomme og forgiftninger, uden at det betragtes som tegn paa en mangelsygdom, da der i de fleste tilfælde ikke kommer nogen effekt af selv kraftig dosering med C- eller P-vitamin. I de af *Jersild* meddelte tilfælde af purpura og ikke-tuberkulose hæmoptyser med lungeinfiltrater var en P-vitaminbehandling ledsaget af klinisk helbredelse; en P-mangel er sandsynlig som et vigtigt led i disse sygdomstilfældes patogenese.

Kapitel 9

C-VITAMINBEHOVETS STØRRELSE

Som nævnt i det foregaaende kapitel er det kun hos børn, at der findes et objektivt kriterium paa latent scorbut i form af de af *Park og medarbejdere* angivne forandringer i knoglestrukturen ved forskellige led. Disse kriterier er benyttet af *Hamil, Reynolds, Poole & Macy* i en stor undersøgelse over det minimale C-behov hos spædbørn. De undersøgte 475 flaskebørn. 80 % fulgtes fra 1 maanedsalderen i 9 maaneder eller længere ved maanedlige kliniske og rontgenologiske undersøgelser. Børnene fik opvarmet mælk og som eneste C-vitaminkilde tørret appelsinsaft i en mængde svarende til 10 mg ascorbinsyre pr. dag, beregnet meget nøjagtigt under hensyn til det spontane tab efter tilberedningen i de forskellige mælkeportioner. 427 af børnene fik paa denne kost ingen tegn paa latent scorbut (eller som *Hamil* foretrækker det: »mild scurvy«), mens 14 fik »mild scurvy« paa 9 mg og 7 paa mindre. Paa grundlag af dette konkluderer de, at for sunde børn i første leveaar er det minimale C-vitaminbehov svarende til 10 mg ascorbinsyre daglig.

Dette tal er i paafaldende overensstemmelse med de mængder af C-vitamin, som *Tobler* fandt kunde forebygge manifest scorbut hos flygtningebørn i et børnehjem. Børnene fik en praktisk talt C-fri kost og som tillæg 1 kop grannaalete daglig. Ascorbinsyremængden i grannaalete fremstillet efter *Tobler's* opskrift er — i 1938 — af *Rietschel* bestemt til omkring 10 mg. Andre Wienerbørn fik — ligeledes under den forrige verdenskrig — forebygget manifest scorbut med daglig tilskud af 10 ml citronsaft, der svarer til 5 mg ascorbinsyre (*Chick & medarbejdere*).

Efter at det overbevisende var vist af *James Lind* i 1753, at citronsaft var et sikkert middel til at forebygge og helbrede

scorbut, blev der i den engelske marine indført et dagligt tilskud af citronsaft i den næsten C-vitaminfrie mandskabskost. Omkring aar 1800 forelaa der erfaringer for, at 28 ml af middelhavscitroner er fuldt tilstrækkelig til at forebygge manifesterede scorbutsymptomer hos voksne, og at 14 ml næsten er tilstrækkeligt. De 28 ml citronsaft svarer til 14 mg ascorbinsyre eller 280 I.E.

Til at forebygge det latente tegn kapillærinsufficiens finder *Göthlin* i 1931 ved forsøg paa 2 voksne sindssygepatienter, der blev sondemadet med en kost, der ellers var praktisk talt C-vitaminfri, at behovet ved indgift af citronsaft er svarende til 23—33 mg ascorbinsyre; i 1937 finder *Göthlin & medarbejdere* ved forsøg med 4 sondemadede sindssygepatienter, at behovet ved indgift af ascorbinsyre er 24—35 mg pr. dag. Disse tals indbyrdes overensstemmelse maa være et indirekte bevis for ascorbinsyrens fulde antiscorbutiske evne hos disse legemlig sunde individer.

Med hjælp af de kemiske metoder til C-vitaminanalyser er der fundet følgende tal for C-vitaminforbruget, der er taget som udtryk for behovet:

Widenbauer (1937) benyttede følgende fremgangsmaade: forsøgspersonerne sættes i en forperiode paa en (ikke nærmere specificeret) C-fattig kost, og udskillelsen i urinen titreres a. m. *Harris & Ray*. Herved bestemmes en »Leerwert«, som overvejende skal skyldes andre reducerende stoffer end C-vitamin. Han belaster heretter med 2—500 mg ascorbinsyre daglig, indtil mætning naas ved udskillelse af ca. 50 % af indgiften. Efter mætningen gives en daglig ascorbinsyremængde, der sikrer en udskillelse i urinen lidt over »Leerwert«; denne dosis ændres lidt i ugentlige forsøgsperioder. Heraf udregnes dagstorbruget $= \frac{1}{7}$ af indgiften pr. uge $\div$ (udskillelsen i urinen $\div$ 7. Leerwert). Paa denne maade finder han forbruget i 7 selvforsøg til: 28 mg 5 gange, 26 og 27 mg 1 gang hver. Hos en 3 aars dreng er dagsforbruget i 2 forsøg 28 og 22 mg; hos voksne finder han efter indgift af Thyroxin og hos en gravid et forbrug paa 70 mg.

Disse talstørrelser omkring 30 mg er i paafaldende overensstemmelse med *Kellie & Zilva's* resultater (1939). *Kellie & Zilva* paaviste blandt andet, at den mindste dosis ascorbinsyre (paa

en ikke-specificeret C-vitaminfattig kost), der kan give mætning, ligger mellem 30 og 50 mg. *Kellie & Zilva* regner i denne meddelelse ogsaa med en »Leerwert«. I *Widenbauer's* forsøg, hvor der ikke indgaar blodanalyse, maa man formode, at blodkoncentrationen er blevet maximal under den indledende belastningsprøve og holdt oppe ved tillægget af ascorbinsyre i hovedforsøget.

Det daglig C-vitaminforbrug beregnes paa en anden maade af *v. Eckelen*. Efter mætning satte han forsøgspersonen paa en C-vitaminfri kost i 83 dage, i denne periode blev han »umættet«. Derefter gav han store ascorbinsyredoser daglig, indtil der igen kom mætning visende sig ved stor udskillelse i urinen. Det daglige forbrug af ascorbinsyre efter den første mætning beregnes af følgende formel:

$$\frac{\text{samlet indgift i 2. belastning} \div \text{udskillelse i 2. belastning}}{\text{antallet af dage}} = 34 \text{ mg.}$$

Forsøget fortsættes i 4 uger med C-vitaminfri kost, og af den igen efterfølgende mætning beregnes det daglige forbrug til 0,84 mg pr. kg eller 60 mg ascorbinsyre pr. 70 kg. Ved forsøg paa ialt 5 sunde individer findes denne størrelse meget konstant mellem 0,80—0,84 mg pr. kg.

Med samme metode finder *Heinemann* ofte et forøget forbrug hos febrile og afebrile patienter, størst hos tuberkulose- og ulcuspatienter. Han finder hos 13 patienter, hvoriblandt 5 scorbutpatienter: 0,8 mg 1 gang, 1,0—1,4 7 Gange, 1,6 1 gang og 4 gange mellem 2,0 og 2,5 mg pr. kg. Forsøgstidens Varighed angiver *Heinemann* i nogle af forsøgene til mellem 18 og 53 dage; men den angives ikke i dem alle. Forsøgstidens varighed skal — efter *Göthlin* (1937) — være aldeles afgørende for resultatet; dette udtrykkes yderst skarpt paa følgende maade: »Without an objective reason for deceiding the duration of the period of abstinence, it appears that every preconceived view as to the requirements of ascorbic acid in man could find confirmation by means of an investigation in accordance with *v. E.'s* principle provided that the length of the period of abstinence is adapted to suit the preconceived view«.

Andre forfattere, bl. a. *Hamel, Wachholder, Stepp & Schroeder*

har ligeledes — med varieret teknik — fundet det daglige forbrug til omkring 50 mg for voksne. Alle disse forsøg er udført paa mættede personer. Berettigelsen af den benyttede fremgangsmaade har følgende — stiltiende — forudsætninger: 1) at organismens ascorbinsyreforbrug er konstant og uafhængigt af tilførsel og lager, 2) at mætning er den normale tilstand.

Sandsynligvis er begge de her nævnte forudsætninger urigtige, men beviserne er vanskelige at fore. *Wachholder*, der baade i urin og blod benytter metylenblaatmetoder (som er blevet kritiseret og forkastet af *Widenbauer*, hvorfor de ikke er nærmere omtalt her), mener (1938) at finde, at behovet er størst ved høj indgift og lavere ved mindre indgift. Nogle af *Kellie & Zilva's* resultater (1939) kan tydes i samme retning. Ved mætningsforsøg regnes der endvidere med, at organismen danner et stort lager. Dette er antagelig tilfældet hos mennesket, det er blandt andet sandsynliggjort af *Groth-Petersen*; men det er ikke fundet ved dyreforsøg. *Zilva* viste i 1936 ved marsvineforsøg, at dyrene paa C-vitaminfri kost faar scorbut paa samme tid uden hensyn til kostens indhold af ascorbinsyre i forvejen, hvis dosis blot har været over den beskyttende.

De nævnte høje tal for C-forbruget er foruden af mætningsprovernes udfald begrundet med henvisning til den hos marsvin fundne forskel i beskyttelsesdosis med makroskopiske og mikroskopiske tegn paa scorbut, og endelig i det store C-vitaminindhold i fri- marsvinekost. Disse begrundelser er blevet stærkt kritiseret, især af *Rietschel*, som hævder, at en saadan sammenligning er utilladelig, da de mikroskopiske scorbuttegn i marsvinefortænderne fremkommer i stadig voksende tænder, mens tænderne hos voksne mennesker ikke vokser.

At opfatte mætning som normal tilstand hos mennesket, som først postuleret af *Harris & Ray* og Utrecht-skolen, lader sig heller ikke opretholde paa grund af de resultater af ascorbinsyrestudier, som skandinaviske forfattere er kommet til (*Björkman & Backman, Bruch, Bræstrup, Dagulf, Dils, Groth-Petersen, Nielsen, Nilsson, Westergaard* o. fl.). *Heinemann* opfatter i en senere publikation behovet bestemt a. m. v. *Eekelen* som det maximale og ikke som det optimale behov; dette mener han ligger mellem 0,4 mg pr. kg (*Göthlin's* norm) og 0,8 mg pr. kg.

Trods denne forsigtige indrømmelse har *Heinemann* dog svært ved at slippe den tidligere norm, der anbefales »as a factor of safety against altered circumstances which may increase requirements«.

Stepp & Schroeder holder stadig fast ved den høje norm, som de maa indrømme ligger over saavel den profylaktiske som den kurative dagsdosis: »Die prophylaktische bzw. kurative Dosis entspricht noch lange nicht der physiologische richtigen d. h. dem wirklichen Bedarf an Vitamin C.«

Tabel 36.
Normer for fødens C-vitaminindhold.

	Ascorbinsyre mg	Bemærkninger
Engelsk sømandsnorm ca. 1800	14	forebygger manifest scorbut.
Göthlin 1931 & 1937	23—37	forebygger kapillærinsufficiens.
v. Eekelen & Heinemann 1936	60	forbruget maalt mellem 2 mætninger.
Widenbauer 1937	28+	forbruget bestemt ved urinudskillelse efter mætning.
Wachholder; Stepp & Schroeder 1938	50	forbruget bestemt efter mætning.
Hamil & medarbejdere (spædbørn) 1938	10	forebygger »mild scurvy« efter Park's kriterier.
Bræstrup 1939 (spædbørn)	ca. 20	giver udskillelse i urinen.

Diskussion.

Af denne oversigt fremgaar, at normerne for C-vitaminbehovet hviler paa vidt forskellige kriterier. Behovet findes lavest ved kriteriet: Beskyttelse mod manifest scorbut, og maaske lidt højere (hos børn) ved beskyttelse mod latent scorbut. Behovet er ret lavt hos voksne ved kriteriet: Kapillærinsufficiens; det findes højst ved kriteriet mætning bestemt med de kemiske metoder. Af disse kriterier giver det førstnævnte et minimaltal; optimalnormen maa ligge en del højere, men den er vanskelig at fixere, — den ligger antagelig i nærheden af eller noget højere end *Göthlin's* norm, men afgjort under *v. Eekelen's* maximalnorm.

De kemiske metoder har saaledes ikke bidraget til at afgøre spørgsmaalet om størrelsen af den optimale C-vitaminnorm.

Heller ikke undersøgelse af C-vitaminkoncentration i blod uden belastningsforsøg paa forskellig kost vil antagelig kunne bestemme den optimale C-vitaminnorm. Begrundelsen herfor er følgende: Talrige forfattere har fundet ganske lave tal eller 0 baade hos scorbutpatienter, hos patienter med forskellige sygdomme og hos fuldstændig sunde individer. At blodkoncentrationen hos talrige individer svinger med kostens indhold af C-vitamin (v. *Eckelen*, *Widenbauer*, *Dagulf*, *Farmer & Abl*, egne undersøgelser, o. a.) og under C-vitaminfri forsøgsperioder falder til 0 eller ganske lave tal afhængig af den benyttede metode (v. *Eckelen*, *Widenbauer*, *Rietschel & Mensching*), er der nogenlunde enighed om. De fleste forsøgspersoner i disse forsøg har været fuldstændig klinisk sunde og uden nedsat kapillærresistens i indtil 3 maanedes. Der mangler altsaa i dette tidsrum et klinisk kriterium til at bedømme den C-vitaminfrie kosts eventuelt skadelige indvirkning.

I denne forbindelse kan det nævnes, at scorbut hos sunde børn uden infektioner først bliver manifest efter 4—7 maanedes C-fattig kost, mens intercurrente sygdomme ofte fremskynder de latente tegn paa scorbut (*Hamil & medarbejdere*).

Dette maa tyde paa, at andre faktorer end C-vitamintilforslens størrelse er afgørende for, om en scorbut bliver manifest; altsaa at minimalbehovet ikke er konstant, men afhængig baade af tilførsel, lagre, sundhedstilstand og maaske endnu flere faktorer, for eksempel ændrede resorptionsmuligheder. Hos patienter med forskellige sygdomme bl. a. ved kirurgisk tuberkulose og lunge-tuberkulose er der saaledes af *Dagulf* og *Groth-Petersen* fundet forhold, som tyder paa abnormt C-vitaminstofskifte, især en manglende evne til at opnaa en relativ høj ascorbinsyrekoncentration i blodet. I nogle af de meddelte tilfælde synes nyretærsklen at være forankret ved et meget lavt niveau, som ikke kan ændres væsentligt trods langvarig indgift af C-vitamin. Disse forhold er ogsaa fundet i enkelte tilfælde af *Rinehardt & medarbejdere* hos patienter med gigtfeber og polyarthritis.

Da yderligere talrige individer med den »kemiske diagnose« C-hypovitaminose ingen kliniske symptomer har i et meget

langt tidsrum (*Dagulf, Trier & Pedersen*), og da C-vitamin ikke med sikkerhed synes at øge resistensen mod infektionssygdomme*), er det næppe sandsynligt, at undersøgelse af befolkningsgrupper paa forskellig C-vitaminholdig kost hverken ved sygelighedsstatistik eller andre undersøgelsesmetoder kan belyse spørgsmaalet om optimalnormens størrelse. En lignende betragtning er fremsat af *Göthlin, Frisell & Rundquist*: »— — the supply of vitamine C which has been usual for generations is, owing to differences in obtainable food material and consequently in diet, entirely different for the people who live in different lattitudes, a circumstance which may also possibly have affected there vitamin requirements.«

Det fremgaar af denne oversigt, at der med et paalideligt grundlag næppe vil kunne kræves en større daglig C-vitamin-tilførsel end svarende til 20—35 mg ascorbinsyre eller 5—700 I.E. C-vitamin til sunde voksne individer.

Et øget behov findes utvivlsomt hos gravide og hos diegivende mødre (*Baumann; Ingalls, Draper & Teel; Neuweiler; Elmby & Becker-Christensen*). Heri er der intet mærkeligt i betragtning af de betydelige mængder, der udskilles gennem mælken. *Ingalls & medarbejdere* finder saaledes, at der gennem mælken dagligt kan udskilles op til 46 mg, naar moderen faar store mængder af C-vitamin. Tilsvarende resultater er ogsaa fundet af *Bræstrup*.

*) Fremhævet af *Wachholder* og bekræftet af egne undersøgelser, hvor flere tilfælde af angina og influenza har vist høj ascorbinsyre-koncentration straks ved sygdommens begyndelse.

Kapitel 10

C-VITAMINBEHOVET VED FORSKELLIGE SYGDOMME OG ASCORBINSYRENS ANVENDELSE I TERAPIEN

En meget omlangsrig del af den foreliggende C-vitaminliteratur beskæftiger sig med undersøgelser over C-vitaminbehovet ved forskellige sygdomme og over værdien af C-vitaminterapi og -profylakse. Literaturen om C-vitaminets betydning for marsvinets resistens mod forskellige bakterielle infektioner og andre ydre paavirkninger (f. ex. difteritoxin-toleransen) er yderst vidtloftig, og de fundne resultater er meget modstridende. Mange af de offentliggjorte undersøgelser hviler — som desværre saa ofte i C-vitaminliteraturen — paa enkelte eller faatallige iagttagelser uden tilstrækkelige kontrolundersøgelser. En nærmere gennemgang af den foreliggende literatur om disse emner skal ikke gives her; men der kan henvises til de kun delvis kritiske oversigter, der er givet af *Perla & Marmorston*, *Hasselbach*, *Dagulf* og *Jusatz*.

I dyreforsøg er der af talrige forfattere fundet forhold, som tyder paa ascorbinsyrens betydning ved forskellige immunitetsprocesser; men de fundne resultater er modstridende og er ikke bekræftet for menneskets vedkommende, hvor de ofte ikke kan efterprøves.

Blandt de mest overbevisende af de foreliggende undersøgelser hos mennesket om C-vitaminets betydning ved immunitetsprocesser kan nævnes den af *Chu & Chow* fundne positive korrelation mellem koncentrationen af komplement og ascorbinsyre i blodplasma.

En kritisk gennemgang af alle resistens- og terapimeddelelser har kun een sikker konklusion: Der foreligger ingen tydelige beviser for C-vitaminets betydning for resistensforhold og im-

munitet eller som terapeutikum ved sygdomme hos mennesket, undtagen hvor sygdommene er ledsaget af manifeste kliniske symptomer paa scorbut.

Ved manifest scorbut er der ikke nogen resistensnedsættelse overfor banale infektioner (*Bloch*)*), og kan altsaa heller ikke ventes ved latent scorbut. Den saa ofte fremførte paastand (f. ex. af *Harris*, *Seyderhelm* og *Stepp*) om C-vitaminets betydning for infektionsimmuniteten hos mennesket kan næppe være rigtig.

Ved mætningsprøverne er der ofte fundet tegn paa øget forbrug hos patienter med forskellige sygdomme, især infektions-sygdomme (*Hasselbach*). Overensstemmende hermed er der ved blodundersøgelser fundet lavere koncentrationer ved febrile sygdomme end hos normale eller hos andre patienter med indifferente sygdomme, f. ex. afebrile frakturer. Dette er blandt andet fundet af *Heinemann*, *Dagulf*, *Groth-Petersen*, *Rinehardt & medarbejdere* og er bekræftet i egne undersøgelser (figur 12). Trods den fundne »hypovitaminose«-tilstand ved disse sygdomme er der ingen sikker terapeutisk effekt af selv langvarig og kraftig C-vitaminterapi (*Dagulf*, *Groth-Petersen*).

Paa grundlag af 15 ikke typebestemte tilfælde af krupøs pneumoni mente *Gander & Niederberger* at se en yderst gunstig effekt af en kraftig ascorbinsyreterapi, og dette er bekræftet af *Hochwald*. Ascorbinsyreterapien er efterprøvet af *Biilmann*, som kon-

*) *Bloch's* meddelelse er en sammenligning af infektionshyppigheden i hans xeroftalmi- og scorbut-materiale, der begge for en væsentlig del omfatter børn i 2. leveaar.

Blandt 86 tilfælde af xeroftalmi havde 68 (= 79 %) infektioner. Blandt 32 tilfælde af scorbut havde 9 (28 %) infektioner, og denne infektionshyppighed skal ikke være større end blandt andre børn med kroniske sygdomme.

At forskellen i infektionshyppighed ved de to mangelsygdomme er reel, fremgaar af beregning af middelfejlen paa differensen efter den sædvanlige formel:

$$M = \sqrt{\frac{p_1 \times q_1}{n_1} + \frac{p_2 \times q_2}{n_2}},$$

hvor n_1 og n_2 er antallet af tilfælde, p_1 og p_2 procenten af udslagene divideret med 100 og $q = 1 \div p$.

Herved faas middelfejlen til 0,091, differensen til 0,51; dette er 5,6 × middelfejlen. Forskellen i infektionshyppigheden hos børn med A- og C-mangel er saaledes reel.

kluderer overensstemmende med *Gander & Niederberger*. I betragtning af sygdommens vekslende prognose ved de forskellige pneumokoktyper, dens ofte lunefulde forløb, det meddelte materials størrelse og uensartethed og endelig manglen af et kontrolmateriale i forsøgstiden, synes *Biilmann's* slutninger at hvile paa et meget usikkert grundlag.

En mulighed for gunstige resultater af C-vitaminterapi ved krupøs pneumoni er der efter *Schiodt & Sogaard*, som viser, at serumsygdom efter kaninserum kan mildnes eller fuldstændig forebygges ved en kraftig intravenøs ascorbinsyreterapi. En tilsvarende iagttagelse er gjort ved serumsygdom efter serumbehandling af difteripatienter.

Endelig foreligger der en mulighed for, at ascorbinsyre kan nedsætte visse lægemidlers giftighed, saaledes som det er vist ved neosalvarsan (*Sulzberger & Oser, Kirchmann*) og guldsalte (*Hasselbach, Secher*).

Mens mange forskere er enige om, at der normalt ikke findes dehydroascorbinsyre i blodet, er dette fundet efter belastningsprøver baade hos sunde og hos patienter med forskellige sygdomme (*Lund & Elmby, Dagulf, Groth-Petersen*). Dehydroascorbinsyre kan ikke paavises direkte med diklorfenolindofenol eller metylenblaat, men først efter omdannelse til reduceret ascorbinsyre. Da de fleste af de foretagne undersøgelser over ascorbinsyrekoncentrationen i blod ved forskellige infektioner kun omfatter bestemmelse af den reducerede mængde, ved man altsaa ikke med sikkerhed, om der ved disse lidelser muligvis forekommer dehydroascorbinsyre i større eller mindre mængder. Grunden til de fundne lave tal kunde saaledes bero paa, at organismens evne til at tilbagereducere dehydroascorbinsyre — dels i organismen og dels under optagelsen fra tarmen — er svækket eller ophørt. De lave tal ved infektioner behøver altsaa ikke at være bevis paa oget forbrug.

I denne forbindelse kan man henvise til de ændringer i NaCl-stofskiftet, som findes ved krupøs pneumoni: Efter *Ipsen* kommer der i sygdommens begyndelse et fald i serumkloret indtil en minimalværdi paa 3-5 dag og herefter igen en stigning inden krisen. Samtidig aftager udskillelsen i urinen, den stiger igen ved en koncentration over 95 millimol. Den nærmere meka-

nisme ved natriumkloridretentionen ved pneumoni er ganske ukendt; det er uopklaret, hvor saltet deponeres; — og dette kan altsaa ikke paa afgørende maade tillade nogen analogislutning med C-vitaminsstofskiftet ved infektioner. Forholdet er nævnt her for at ventilere den mulighed, at faldet i C-vitaminkoncentrationen i blodet under forløbet af infektioner ikke behøver at være udtryk for et øget forbrug, selv om denne mulighed er den mest nærliggende.

Nogle forsøg af *Zook* og *Sharpless* viser — om ikke andet — hvor fast troen paa det øgede C-forbrug under feber er: De finder ved marsvineforsøg entydigt, at der er et øget C-forbrug ved kortbølge-feber (bestemt ved organanalyser). Det efterprøves paa 6 personer under kunstig feberbehandling; men hos disse findes uforandret ascorbinsyrekoncentration i blodplasma. Dette fund forklares saaledes: Under feberen syder forsøgspersonerne stærkt, herved koncentrerer blodvæsken med sit — aftagende — C-indhold, hvorfor koncentrationen pr. rumfang plasma er uforandret. Denne forklaring fremføres uden mindste dokumentation for de paastaaede ændringer i blodets sammensætning, selv en hæmoglobinbestemmelse før og efter feberkuren mangler.

Den endelige afgørelse af, om der foreligger et virkeligt merforbrug af C-vitamin ved infektioner, kan først foreligge efter omhyggelige balanceforsøg med analyseret kost + eventuelt C-vitamintilskud og analyser af baade reduceret ascorbinsyre og dehydroascorbinsyre i blod og urin.

Ved forskellige blødersygdomme og andre blødsygdomme med hæmorrhagisk diatese er der i nogle tilfælde fundet forbigaaende eller varigere effekt af C-vitaminterapi; men de fleste — og som regel første — lovende resultater er ikke blevet bekræftet. Det er saaledes indtil videre tvivlsomt og usikkert, om C-vitamin har nogen betydning ved blødsygdomme. En gennemgang af den foreliggende litteratur er nylig foretaget af *Dagulf*; det sidste aars publikationer ændrer intet i den af ham givne fremstilling, hvorfor den ikke gentages her.*)

Ved en form for hæmorrhagisk colitis fandt *Elmby & Warburg*, at den hæmorrhagiske diatese kunde ophæves ved citron-

*) Danske meddelelser om C-vitaminterapi ved blødsygdomme er givet af *Lønberg, Plum & Thomsen* og *Heinild & Schiødt*.

saftbehandling i store doser, men ikke ved kraftig ascorbinsyre-terapi pr. os eller intravenøst. Dette blev tydet som tegn paa, at ascorbinsyren ikke kunde resorberes og retineres, og at et i citronsaft forekommende Co-vitamin var nødvendigt hertil. *Lund & Elmby* fortsatte disse undersøgelser og viste, at der hos patienter med tarmsygdomme efter ascorbinsyrebelastning kommer en større stigning af dehydroascorbinsyre i blodet end hos sunde individer.

En netop udkommet større afhandling af *Kirchmann* med den forjættende titel: »Über die Bedeutung des Vitamin-C für die klinische Medizin« giver ingen beviser for effekten af C-vitaminterapi ved medicinske sygdomme — udover henvisninger til *Stepp's* tidligere meddelelser om effekten ved enkelttilfælde af blodsygdomme.

Literaturen om C-vitaminets forekomst og koncentration i de forskellige organer og om dets rolle i det indre stofskifte (*Tonutti, Diehl & Neumann*) er omtalt udforligt blandt andet i *Kirchmann's* afhandling. Erfaringerne er endnu ret spredte; der er ikke endnu fremkommet oplysninger, som kan bidrage til belysning af C-vitaminets betydning for terapien.

Konklusionen af det foreliggende bliver altsaa, at C-vitaminbehovet muligvis er forhøjet ved visse — især febrile — sygdomme, og at C-vitaminterapi næppe er nogen virkelig substitutions-terapi undtagen ved manifeste mangeltilstande som klinisk scorbut og enkelte tarmsygdomme med hæmorrhagisk diatese.

Der er altsaa endnu talrige uløste problemer; dette er udtrykt rammende af *Rietschel* (1939): »Gewiss ist die C-vitaminfrage en keiner Weise wissenschaftlich und praktisch völlig geklärt. Umso mehr ist es aber notwendig, dass man in Ruhe weiter daran arbeitet, denn wir stehen auch in dieser Frage erst am Anfang unserer Erkenntnisse.«

RÉSUMÉ

De foretagne C-vitaminstudier er udført med anvendelse af *Lund & Lieck's* metylenblaatmetode til bestemmelse af ascorbinsyrekoncentrationen i serum og med *Lund's* metylenblaatmetode til bestemmelse af ascorbinsyrekoncentrationen i urin.

I *kapitel 1* gennemgaas den førstnævnte metode, og det vises ved titreringen i 10 sera med varieret pH, at der baade for serumascorbinsyre og for ascorbinsyre tilsat til deproteiniseret serum findes et omraade mellem pH 2,8 og 4,2, hvor analyser giver det samme resultat (tabel 1—11 og figur 1—5).

Da ca. 10 % af blandinger af deproteiniseret serum og stødpude ligger udenfor det optimale omraade, er det nødvendigt at kontrollere og eventuelt korrigere pH inden titreringens udførelse.

I 6 sera bestemmes pH og proteinmængden; ingen af disse 2 forhold findes at have betydning for beliggenheden af pH efter deproteinisering og stødpudetilsætning.

Det gennemsnitlige metylenblaatforbrug for ascorbinsyre tilsat til det deproteiniserede serum er 26 % af forbruget i vand.

I *kapitel 2* gennemgaas *Lund's* metylenblaatmetode til urintitrering og en modifikation af denne, som har været anvendt en del. Det vises, at sidstnævnte ikke er kvantitativ, men kun giver et grovere skøn, mens førstnævnte er kvantitativ.

Baade for udskilt ascorbinsyre og for tilsat ascorbinsyre findes — ved titrering i 10 urinprøver med varieret pH — et pH-omraade mellem 3,2 og 4,5, hvor analyser giver samme maksimale resultat (tabel 15—20 og figur 6—10).

Der angives en fortyndingsvæske til urintitreringen, hvorved en konstant pH og kvantitativ titrering sikres.

I *kapitel 3* omtales resultaterne af ascorbinsyreanalyser i

serum udført paa medicinske og kirurgiske patienter og paa enkelte sunde individer:

Der findes en aldersvariation: høje tal fortrinsvis hos yngre og lave tal hos ældre (tabel 23 og figur 11), og en aarstidsvariation: maanedlige gennemsnitskoncentrationer af de udførte analyser viser maximum i juli—august efterfulgt af et ret jævnt fald indtil et minimum i maj maaned (tabel 21 og figur 12).

I sommermaanederne findes en ret tydelig korrelation mellem fodens skonsmæssige C-vitaminindhold og ascorbinsyrekoncentrationen (tabel 24), idet høje værdier kun er fundet hos personer paa en skonsmæssig C-vitaminrig kost, og lave værdier — hos afebrile — er fundet efter en skonsmæssig C-vitaminfattig kost.

Hos febrile patienter og patienter med afebrile pyogene sygdomme findes et lavere ascorbinsyrespejl end hos de øvrige, men iøvrigt findes der ingen forskel ved andre medicinske eller kirurgiske sygdomme.

Paa grundlag af indhentede kostoplysninger konkluderes det, at de fundne kvantitative variationer i ascorbinsyrekoncentrationen synes at være en følge af de personlige og aarstids-betingede ændringer i den C-vitaminmængde, der tilføres gennem føden.

I *kapitel 4* refereres forskellige udbredte metoder til ascorbinsyreanalyser i blod, de resultater, som er fundet angaaende ascorbinsyreindholdet i blodets formelelementer og resultater af sammenlignende undersøgelser med forskellige metoder.

Et materiale paa 70 *Lund & Lieck-* og *Farmer & Abt-*analyser udført af *Olsen* giver en dobbelt saa stor omregningsfaktor som fundet af *Kirk & Warburg*.

I *kapitel 5* gives en kort oversigt over de kemiske ascorbinsyreanalyseres historie.

Et materiale paa 25 belastningsprover med ascorbinsyreindgift pr. os viser, at man næppe faar et bedre indtryk af organismens tilstand med hensyn til C-vitamin ved en belastning end ved bestemmelse af den spontane koncentration i serum.

I *kapitel 6* omtales tidligere undersøgelser over beliggenheden af nyretærsklen for ascorbinsyre. I 12 forsøg bestemmes nyretærsklens beliggenhed efter indgift af en enkelt eller nogle faa

doser ascorbinsyre pr. os, og det findes — i overensstemmelse med andre — at der er en betydelig individuel variation i nyretærsklens beliggenhed (tabel 28 og figur 14—18).

I overensstemmelse med *Wright, Lilienfeld & MacLenathan's* undersøgelser vises det i 2 forsøg med intravenøse ascorbinsyrebelastninger, at ascorbinsyre udskilles gennem nyrerne i lobet af faa minutter, naar koncentrationen i blodet er høj (tabel 29 og figur 19).

I *kapitel 7* beskrives 5 tærskelflytningsforsøg (tabel 31—35 og figur 20—22). Ved disse vises det, at nyretærsklen for ascorbinsyre kan ændres ligesom koncentrationen i serum, og den synes — indtil en vis maximal størrelse — at være beliggende i en ret fixeret afstand fra serumkoncentrationen under lav eller moderat ascorbinsyreindgift.

Herefter omtales de nyeste undersøgelser over ascorbinsyrens udskillelsesforhold gennem nyrerne.

Kapitel 8 er en oversigt over literaturen om C-hypovitaminosen, bestemt ved laboratorieundersøgelser og ved kliniske undersøgelsesmetoder.

I *kapitel 9* gives en paa literaturen baseret oversigt over størrelsen af menneskets C-vitaminbehov. Det anføres, at man finder stigende normer efter anvendelse af følgende kriterier: 1) Beskyttelse mod manifest scorbut, 2) Beskyttelse mod latent scorbut og 3) Opretholdelse af nætningstilstand med udskillelse af ascorbinsyre i urinen bestemt med kemiske analysemetoder.

Med et paalideligt grundlag for en C-vitamminnorm vil man næppe kunne kræve større daglig tilførsel af C-vitamin til sunde individer end 20—35 mg ascorbinsyre eller 5—700 I.E.

Paa grundlag af literaturen gives i *kapitel 10* en kort oversigt over den nuværende viden om øget C-vitaminbehov og -forbrug ved forskellige sygdomme og om mulighederne for ascorbinsyrens anvendelse i terapien.

LITERATURFORTEGNELSE*)

- Abbasy, M. A., L. J. Harris, S. N. Ray & J. R. Marrack:* Lancet 2, 1399, 1935.
- Abl, A. F. & C. J. Farmer:* Am. J. Dis. Child., 54, 682, 1937 (Kongres-referat).
- *J. A. M. A.* 111, 1555, 1938.
- Alt, H. L., H. Chin & C. J. Farmer:* Am. J. M. Sc. 197, 228, 1939, cit. e. Nutrition Abstr. & Rew. 9, 195, 1939.
- Ammon, R. & K. Hinsberg:* Klin. Wehnschr. 15, 85, 1936.
- Andersen, W. Thune:* Acta med. Scandinav. suppl. 54, 1936.
- Archer, H. E. & G. G. Graham:* Lancet 2, 364, 1936.
- Armentano, L., A. Bentsáth, T. Béres, S. Rusznyak & A. Szent-Györgyi:* Deutsche med. Wehnschr. 62, 1325, 1936.
- Backman, C. S.:* Nord. Med. 2, 1604, 1939.
- Baumann, T.:* Ztschr. f. Vitaminforsch. 6, 1, 1937.
- *Jahrb. f. Kinderh.* 150, 193, 1937.
- Bessey, O. A.:* J. A. M. A. 111, 1290, 1938.
- Büilmann, G.:* Acta med. Scandinav. suppl. (i trykken).
- Bing, J.:* Ugeskr. f. læger 100, 346, 1938 & Acta med. Scandinav. 94, 619, 1938.
- Birch, T. W., L. J. Harris & S. N. Ray:* Biochem. J. 27, 590, 1933.
- Björckman, S. & S. Backman:* Nord. Med. 1, 196, 1939.
- Bloch, C. E.:* Ugesk. f. læger 90, 185, 1928.
- Borsook, H., H. W. Davenport, C. E. P. Jeffreys & R. C. Warner:* J. Biol. Chem. 117, 237, 1937.
- Broch, O. J.:* Nord. Med. 1, 525, 1939.
- Bræstrup, P. W.:* Acta pædiat. 19, 328, 1937.
- *Hospitalstid.* 81, 501, 1938.
- *C-Vitaminstudier hos Spædbørn, Disputats, København* 1939.
- & *P. Hansen:* Ugesk. f. læger 100, 1324, 1938.
- Chick, H., E. J. Dalyell, M. Hume & H. M. MacKay:* Lancet 2, 7, 1922.
- Chu, F. T. & B. F. Chow:* Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 38, 679, 1938.
- Cushman, M. & A. M. Butler:* Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 39, 534, 1938.
- Dagulf, H.:* Ascorbinsäurestudien an Gesunden und Tuberkulose-kranken, Akadem. Afhandl., Göteborg 1939.
- *Klin. Wehnschr.* 18, 669, 1939.

*) Afhandlingler mærket med *) er ikke omtalt i teksten.

- Dalldorf, G.*: J. A. M. A. 111, 1376, 1938*).
- Degeller, jr., O.*: Onderzoekingen over het Gehalte aan Vitamine-C van het Blood, Proefschrift, Utrecht 1936.
- Diehl, F. & H. Neumann*: Klin. Wehnschr. 18, 418, 1939.
- Difs, H.*: Nord. Med. 2, 1597, 1939.
- v. Drigalski, W.*: Klin. Wehnschr. 18, 1056, 1939.*)
- v. Eckelen, M.*: Biochem. J. 30, 2291, 1936.
- Over Opname, Verbruik en Uitscheiding van Vitamine C door de Mens, Proefschrift, Utrecht 1936.
 - Ztschr. f. Vitaminforsch. 7, 254, 1938.
 - & A. Emmerie: Biochem. J. 30, 25, 1936.
 - — B. Josephy & L. K. Wolff: Nature, London 132, 315, 1933.
 - — — — Klin. Wehnschr. 13, 564, 1934.
 - — & L. K. Wolff: Ztschr. f. Vitaminforsch. 6, 150, 1937.
 - & M. Heinemann: J. Clin. Investigation 17, 293, 1938.
- Elmby, A. & P. Becker-Christensen*: Ugesk. f. læger 100, 1047, 1938 & Klin. Wehnschr. 17, 1432, 1938.
- & E. Warburg: Ugesk. f. læger 99, 1141, 1937 & Lancet 2, 1363, 1937.
 - & T. K. With: Klin. Wehnschr. 16, 746, 1937.
- Emmerie, A. & M. v. Eckelen*: Biochem. J. 28, 1153, 1934.
- — Biochem. J. 31, 2125, 1937.
- v. Euler, H. & E. Adler*: Naturwiss. 22, 777, 1934.
- — Hoppe Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. 232, 16, 1935.
- Farmer, C. J. & A. F. Abt*: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 32, 1625, 1935.
- — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 34, 146, 1936.
 - — Nutrition: The Newer Diagnostic Methods, Milbank Memorial Fund, New York 1938, side 114.
 - — Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 38, 399, 1938.
- Faulkner, J. M. & F. H. L. Taylor*: J. Clin. Investigation 17, 69, 1938.
- Ferrand, M. & A. Policard*: Klin. Wehnschr. 16, 308 & 347, 1937.*)
- Fridericia, L. S.*: Tidsskr. f. d. norske lægefor. 58, 436 & 505, 1938.
- Fujita, A. & D. Iwatake*: Biochem. Ztschr. 277, 293, 1935.
- Gabbe, E.*: Klin. Wehnschr. 13, 1389, 1934.
- Klin. Wehnschr. 14, 613, 1935.
 - Klin. Wehnschr. 15, 292, 1936.
 - Klin. Wehnschr. 16, 483, 1937.
- v. Gaggi, J. & P. Ujsaghy*: Klin. Wehnschr. 15, 793, 1936.
- Gander, J. & W. Niederberger*: München. med. Wehnschr. 83, 2074, 1936.
- Goldsmith, G. A. & G. F. Ellinger*: Arch. Int. Med. 63, 531, 1939.
- Greenberg, L. D., J. F. Rinchardt & N. M. Phatek*: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 35, 1934, 1936.*)
- Groth-Petersen, B. & E.*: Nord. Med. 2, 1565, 1939.
- Nord. Med. 3, 2441, 1939.

- Guggenheim, K.: J. Hyg. 39, 35, 1939.
- Guldager, A. & F. Heintzelmann: Ugesk. f. læger 101, 826, 1939.
— & J. E. Poulsen: Hospitalstid. 78, 1029, 1935.*)
- Göthlin, G. F.: Skandinav. Arch. f. Physiol. 61, 225, 1931.
— Nature, London 134, 569, 1934.
— Lancet 2, 703, 1937.
— Acta pædiat. 20, 70, 1938.
— E. Frisell & N. Rundquist: Acta med. Scandinav. 92, 1, 1937.
- Hamel, P.: Klin. Wehnschr. 16, 1105, 1937.
- Hamil, B. M., L. Reynolds, M. W. Poole & I. G. Macy: Am. J. Dis. Child. 56, 561, 1938.
- Harde, E., I. A. Rothstein & H. D. Ratish: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 32, 1088, 1935.*)
- Harris, L. J. & M. A. Abbasy: Lancet 2, 1429, 1937.
— — & J. Yudkin: Lancet 1, 1488, 1936.
— & S. N. Ray: Lancet 1, 71, 1935.
— — & A. Ward: Biochem. J. 27, 2011, 1933.
- Hasselbach, F.: Deutsche med. Wehnschr. 62, 924, 1936.
— Ztschr. f. Vitaminforsch. 7, 152, 1938.
- Hausberger, F. X. & N. Neuenschwander-Lemmer: Klin. Wehnschr. 18, 1119, 1939.
- Heinemann, M.: Biochem. J. 30, 2299, 1936.
— J. Clin. Investigation 17, 671 & 751, 1938.
- Herlitz, C. W.: Acta pædiat. 23, 43, 1938.
- Hess, A. F.: J. A. M. A. 68, 235, 1917.
- Hochwald, A.: Klin. Wehnschr. 15, 894, 1936.
— Deutsche med. Wehnschr. 63, 182, 1937.
- Höjer, J. A.: Acta pædiat., suppl. 3, 1924.
- Hoygaard, A.: Nord. med. tidsskr. 16, 1647, 1938.
— & H. W. Rasmussen: Nord. med. tidsskr. 15, 728, 1938.
- Ingalls, T. H.: New England J. Med. 215, 1279, 1936.
— J. Pediat. 10, 577, 1937.
— New England J. Med. 218, 872, 1938.
— R. Draper & H. M. Teel: Am. J. Dis. Child. 56, 1011, 1938.
- Ipsen jr., J.: Ugesk. f. læger 98, 1161, 1936.
- Jersild, T.: Lancet 1, 1445, 1938.
— Lancet 1, 632, 1939.
- Jezler, A. & H. Kapp: Ztschr. f. klin. Med. 130, 178, 1936.
— — & F. Ippen: Ztschr. f. klin. Med. 133, 692, 1938.
- Johnson, S. W. & S. S. Zilva: Biochem. J. 28, 1393, 1934.
- Kellie, A. E. & S. S. Zilva: Biochem. J. 29, 1028, 1935.
— — Biochem. J. 30, 361, 1936.
— — Biochem. J. 33, 153, 1939.
- Kendall, A. J. & H. Chin: J. Infect. Dis. 62, 330, 1938.
- King, C. G.: J. A. M. A. 111, 1098 & 1462, 1938.*)
- Kirchmann, L.: Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderh. 56, 102, 1939.

- Kirk, E. & E. Warburg: Nord. Med. 3, 2756 & 2757, 1939.
- Krogh, A.: Kem. Maanedblad 15, 105, 1934 & Ind. & Engin. Chem. 7, 130, 1935.
- Leblong, C. P.: Compt. rend. Soc. de biol. 127, 208, 1938.
- Leibowitz, J. & K. Guggenheim: Ztschr. f. Vitaminforsch. 8, 1, 1938 39.
- Lieck, H.: Nord. med. tidsskr. 15, 681, 1938.*)
- Ugesk. f. læger 101, 1193, 1939.
- Lind, J.: A Treatise of the Scurvy, Edingburgh 1753.
- Lund, H.: Klin. Wehnschr. 16, 1085, 1937.
- Ascorbinsyrens Bestemmelse i Blod og Urin ved Titration med Metylenblaat. Disputats, København 1939.
- & A. Elmby: Klin. Wehnschr. 17, 805, 1938.
- & H. Lieck: Hospitalstid. 79, 798, 1936 & Klin. Wehnschr. 16, 555, 1937.
- — T. K. With & S. Clemmesen: Klin. Wehnschr. 16, 748, 1937.
- & E. Trier: Klin. Wehnschr. 18, 80, 1939 & Nord. Med. 1, 817, 1939.
- E. Trier, M. Ottsen & A. Elmby: Klin. Wehnschr. 18, 79, 1939 & Nord. Med. 1, 816, 1939.
- Lunn, V.: Ugesk. f. læger 99, 1377, 1937.
- Lonberg, A.: Ugesk. f. læger 98, 1067, 1936.
- Martini, E. & A. Bonsignore: Biochem. Ztschr. 273, 170, 1934.
- Mawson, C. A.: Lancet 1, 890, 1938.
- Mentzer, C. & A. Violard-Goudou: Bull. Soc. chem. biol. 19, 707, 1937.*)
- Müller, H.: Ztschr. f. Vitaminforsch. 7, 311, 1938.
- Neuweiler, W.: Klin. Wehnschr. 15, 856, 1936.
- Klin. Wehnschr. 16, 926 1937.
- Ztschr. f. Vitaminforsch. 7, 128, 1938.
- Klin. Wehnschr. 17, 1650, 1938.
- Klin. Wehnschr. 18, 769, 1939.
- Nielsen, H. E.: Bibliot. f. læger 130, 20, 1938.
- Nilsson, P.: Nord. Med. 1, 600, 1939.
- Ottsen, M., H. Lieck & O. Brinch: Nord. Med. 4, 3650, 1939.
- Park, E. A., H. G. Guild, D. Jackson & M. Bond: Arch. Dis. Child. 10, 265, 1935.
- Parsons, L. G.: Lancet 1, 65 & 123, 1938.*)
- Perla, D. & J. Marmorston: Arch. Path. 23, 543 & 683, 1937.
- Pijoan, M. & E. Eddy: J. Lab. & Clin. Med. 22, 1227, 1937.
- & F. J. Klempner: J. Clin. Investigation 16, 443, 1937.
- Plum, P. & S. Thomsen: Ugesk. f. læger 98, 1062, 1936.
- Ralli, E. P. & G. J. Friedman: Ann. Int. Med. 11, 1996, 1938.
- — & S. H. Rubin: J. Clin. Investigation 17, 765, 1938.
- Rietschel, H.: Klin. Wehnschr. 17, 1789, 1938.
- München. med. Wehnschr. 86, 811, 1939.
- & J. Mensching: Klin. Wehnschr. 18, 273, 1939.

- Rinehardt, J. F., L. D. Greenberg, F. Baker, S. R. Mettier, F. Bruckman & F. Choy: Arch. Int. Med. 61, 537, 1938.
- — M. Olney & F. Choy: Arch. Int. Med. 61, 552, 1938.
- Sandberg, T. & H. Dagulf: Nord. Med. 1, 603, 1939.*)
- Schiødt, E. & P. K. Sogaard: Ugesk. f. læger 100, 1327, 1938.
- Schroeder, H.: Klin. Wchnschr. 14, 484, 1935.
- München. med. Wchnschr. 86, 133, 1939.
- Schultzer, P.: Lancet 1, 539, 1933.*)
- Ugesk. f. læger 98, 268, 1936 & Acta med. Scandinav. 88, 317, 1936.
- Biochem. J. 31, 1934, 1937.*)
- Secher, K.: Ugesk. f. læger 100, 609, 1938.
- Sendroy jr., J. & B. F. Miller: J. Clin. Investigation 18, 135, 1939.
- Seyderhelm, R.: Die Hypovitaminosen, Barth, Leipzig 1938.
- Smith, S. L.: J. A. M. A. 111, 1753, 1938.*)
- Spellberg, M. A. & R. W. Keeton: Arch. Int. Med. 63, 1095, 1939.*)
- Stephens, D. J. & E. E. Hawley: J Biol. Chem. 115, 653, 1936.
- Stepp, W.: Ernährungslehre, Grundlagen und Anwendung, Springer, Berlin 1939.
- & H. Schroeder: Klin. Wchnschr. 14, 147, 1935.
- Klin. Wchnschr. 18, 414, 1939.
- Sultzberger, M. B. & B. L. Oser: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 32, 716, 1935.
- Szent-Györgyi, A.: Deutsche med. Wchnschr. 63, 1789, 1937.*)
- Tauber, H. & J. S. Kleiner: J. Biol. Chem. 110, 211, 1935.
- — & D. Mishkind: J. Biol. Chem. 110, 559, 1935.
- Taylor, F. H. L., D. Chase & F. M. Faulkner: Biochem. J. 30, 1119, 1936.
- Teel, H. M., B. S. Burke & R. Draper: Am. J. Dis. Child. 56, 1004, 1938.*)
- Tillmans, J.: Ztschr. Unters. Lebensm. 60, 34, 1930.
- P. Hirsch & H. Dieck: Ztschr. Unters. Lebensm. 63, 267, 1932.
- — & W. Hirsch: Ztschr. Unters. Lebensm. 63, 1, 1932.
- — & J. Jackisch: Ztschr. Unters. Lebensm. 63, 240 & 276, 1932.
- — & F. Siebert: Ztschr. Unters. Lebensm. 63, 21, 1932.
- Tobler, W.: Ztschr. f. Kinderh. 18, 63, 1918.
- Schweiz. med. Wchnschr. 69, 677, 1939.*)
- Tonutti, A.: Ztschr. f. klin. Med. 132, 443, 1937.
- Klin. Wchnschr. 16, 861, 1937.
- Trier, E.: Ugesk. f. læger 98, 1238, 1936.
- Ugesk. f. læger 100, 10, 1938 & Klin. Wchnschr. 17, 976, 1938.
- & H. Pedersen: Acta med. Scandinav. suppl. (i trykken).
- Ungley, C. C.: Lancet 1, 875 & 925, 1938.
- Wachholder, K.: Klin. Wchnschr. 17, 5 & 1661, 1938.
- Fortschr. d. Neurol. Psychiat. 10, 18 & 260, 1938.
- & P. Hamel: Klin. Wchnschr. 16, 10, 1937.
- & H. Podestå: Hoppe Seyler's Ztschr. f. physiol. Chem. 239, 149, 1936.

- Westergaard, F.: Hospitalstid. 80, 713, 1937.
- Westin, G.: Über Zahnveränderungen in Fällen von Skorbut bei Homo
I—II, Akadem. Afhandl., Stockholm 1931.
- Widenbauer, F.: Klin. Wehnschr. 15, 1158, 1936.
- Klin. Wehnschr. 16, 600, 1937.
 - Zentralbl. f. inn. Med. 59, 897, 1938.
 - Klin. Wehnschr. 18, 840, 1939.
 - & A. Kühner: Ztschr. f. Vitaminforsch. 6, 50, 1937.
 - & E. Schneider: Klin. Wehnschr. 17, 1694, 1938.
- Wieters, H.: Merck's J. ber. 49, 93, 1935.
- Merck's J. ber. 51, 38, 1937.
- Wolff, L. K.: Schweiz. med. Wehnschr. 17, 979, 1936.
- Worthis, H., J. Liebmann & E. Worthis: J. A. M. A. 110, 1896, 1938.
- Wright, I. S.: Am. J. M. Sc. 192, 719, 1936.
- Ann. Int. Med. 12, 516, 1938.
 - A. Lilienfeld & E. MacLenathen: Arch. Int. Med. 60, 264, 1937.
 - & E. MacLenathen: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 38, 55, 1938.
- Zacho, C. E.: Ugesk. f. læger 99, 1143, 1937.
- Zilva, S. S.: Biochem. J. 21, 689, 1927.
- Biochem. J. 29, 1612 & 2366, 1935.
 - Biochem. J. 30, 1419, 1936.
 - Biochem. J. 31, 915, 1937.
 - Lancet 2, 1509, 1937.
- Zook, J. & G. R. Sharpless: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 39, 233, 1938.

